

**Untersuchungen über die Kinetik
der Bakterizidie bei Enterobakterien**

Pramod M. Shah
Omdurman

Frankfurt/Main 1971

Aus dem Zentrum der Inneren Medizin der Johann
Wolfgang Goethe Universität, Frankfurt/Main

Untersuchungen über die Kinetik der Bakterizidie
bei Enterobakterien

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin des
Fachbereichs Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe
Universität Frankfurt/Main

vorgelegt von

Pramod M. Shah
Omdurman

Frankfurt/Main 1971



Ich danke Herrn Priv. Doz. Dr. med. W. Stille für
 die Überlassung des Themas und seine Hilfen bei
 der Anfertigung der Arbeit.

III. <u>Chemische Eigenschaften</u>	1
A. <u>Grundstoffgruppen der Polymersäuren</u>	2
1. <u>Antikörper</u>	3
1. <u>Carbonylgruppe</u>	4
2. <u>Carboxylgruppe</u>	5
3. <u>Carboxamidgruppe</u>	6
4. <u>Phenylgruppe</u>	7
5. <u>Nitrogruppe</u>	8
6. <u>Sulfhydrylgruppe</u>	9
7. <u>Hydroxylgruppe</u>	10
8. <u>Halogenatomgruppe</u>	11
9. <u>Triphenylgruppe</u>	12
10. <u>Chloracetylgruppe</u>	13
11. <u>Isocyanatgruppe</u>	14
12. <u>Acetylgruppe</u>	15
13. <u>Acetylgruppe</u>	16
14. <u>Acetylgruppe</u>	17
15. <u>Acetylgruppe</u>	18
16. <u>Acetylgruppe</u>	19
17. <u>Acetylgruppe</u>	20
18. <u>Acetylgruppe</u>	21
19. <u>Acetylgruppe</u>	22
20. <u>Acetylgruppe</u>	23
21. <u>Acetylgruppe</u>	24
22. <u>Acetylgruppe</u>	25
23. <u>Acetylgruppe</u>	26
24. <u>Acetylgruppe</u>	27
25. <u>Acetylgruppe</u>	28
26. <u>Acetylgruppe</u>	29
27. <u>Acetylgruppe</u>	30
28. <u>Acetylgruppe</u>	31
29. <u>Acetylgruppe</u>	32
30. <u>Acetylgruppe</u>	33
31. <u>Acetylgruppe</u>	34
32. <u>Acetylgruppe</u>	35
33. <u>Acetylgruppe</u>	36
34. <u>Acetylgruppe</u>	37
35. <u>Acetylgruppe</u>	38
36. <u>Acetylgruppe</u>	39
37. <u>Acetylgruppe</u>	40
38. <u>Acetylgruppe</u>	41
39. <u>Acetylgruppe</u>	42
40. <u>Acetylgruppe</u>	43
41. <u>Acetylgruppe</u>	44
42. <u>Acetylgruppe</u>	45
43. <u>Acetylgruppe</u>	46
44. <u>Acetylgruppe</u>	47
45. <u>Acetylgruppe</u>	48
46. <u>Acetylgruppe</u>	49
47. <u>Acetylgruppe</u>	50
48. <u>Acetylgruppe</u>	51
49. <u>Acetylgruppe</u>	52
50. <u>Acetylgruppe</u>	53
51. <u>Acetylgruppe</u>	54
52. <u>Acetylgruppe</u>	55
53. <u>Acetylgruppe</u>	56
54. <u>Acetylgruppe</u>	57
55. <u>Acetylgruppe</u>	58
56. <u>Acetylgruppe</u>	59
57. <u>Acetylgruppe</u>	60
58. <u>Acetylgruppe</u>	61
59. <u>Acetylgruppe</u>	62
60. <u>Acetylgruppe</u>	63
61. <u>Acetylgruppe</u>	64
62. <u>Acetylgruppe</u>	65
63. <u>Acetylgruppe</u>	66
64. <u>Acetylgruppe</u>	67
65. <u>Acetylgruppe</u>	68
66. <u>Acetylgruppe</u>	69
67. <u>Acetylgruppe</u>	70
68. <u>Acetylgruppe</u>	71
69. <u>Acetylgruppe</u>	72
70. <u>Acetylgruppe</u>	73
71. <u>Acetylgruppe</u>	74
72. <u>Acetylgruppe</u>	75
73. <u>Acetylgruppe</u>	76
74. <u>Acetylgruppe</u>	77
75. <u>Acetylgruppe</u>	78
76. <u>Acetylgruppe</u>	79
77. <u>Acetylgruppe</u>	80
78. <u>Acetylgruppe</u>	81
79. <u>Acetylgruppe</u>	82
80. <u>Acetylgruppe</u>	83
81. <u>Acetylgruppe</u>	84
82. <u>Acetylgruppe</u>	85
83. <u>Acetylgruppe</u>	86
84. <u>Acetylgruppe</u>	87
85. <u>Acetylgruppe</u>	88
86. <u>Acetylgruppe</u>	89
87. <u>Acetylgruppe</u>	90
88. <u>Acetylgruppe</u>	91
89. <u>Acetylgruppe</u>	92
90. <u>Acetylgruppe</u>	93
91. <u>Acetylgruppe</u>	94
92. <u>Acetylgruppe</u>	95
93. <u>Acetylgruppe</u>	96
94. <u>Acetylgruppe</u>	97
95. <u>Acetylgruppe</u>	98
96. <u>Acetylgruppe</u>	99
97. <u>Acetylgruppe</u>	100

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	<u>Seite</u>
I. <u>Einleitung</u>	1
II. <u>Material und Methode</u>	2
III. <u>Eigene Ergebnisse</u>	4
A. Grundsätzliches zur Bakterizidie	4
B. Antibiotika	
1. Ampicillin	6
2. Cephalothin	8
3. Carbenicillin	11
4. Penicillin G	13
5. Kanamycin	15
6. Gentamycin	18
7. Polymyxin B	22
8. Sulfamethoxazol/Trimethoprim	25
9. Trimethoprim	29
10. Chloramphenicol	31
11. Tetracyclin	32
12. Ampicillin im SR-Medium Difco	32
13. Kombinationseffekte	34
C. Stämme-Mittelwertskurven	35
1. Escherichia coli	35
2. Proteus mirabilis	35
3. Klebsiellen	36
4. Salmonellen	36
D. Dosis-Wirkungsrelation	38
IV. <u>Diskussion</u>	41
V. <u>Zusammenfassung</u>	43
<u>Literatur-Nachweis</u>	44

I. Einleitung:

Die Behandlung von Infektionen durch gram-negativen Stäbchen kann auch noch heute trotz der Entwicklung neuer Antibiotika erhebliche Schwierigkeiten bereiten. Besonders bei chronischen oder ungünstig gelegenen Prozessen sowie bei myeloischer Insuffizienz wird das Ziel der Therapie - die Elimination der Erreger - trotz guter in vitro Empfindlichkeit der Keime nicht erreicht. Als wesentlicher Faktor bei der Behandlung derartiger schwerer Infektionen wird von Klinikern und Bakteriologen die Bakterizidie der Antibiotika betont. "Bakterizide Antibiotika sind also vor allem bei Infektionen indiziert, bei denen ein 'sterilisierender' Effekt infolge Ausfall oder Abriegelung der körpereigenen Abwehrkräfte für den Therapieerfolg entscheidend ist." (Walter/Heilmeyer) (9)

Die antibakterielle Aktivität einer antibakteriellen Substanz ist konzentrationsabhängig und in vitro als Konzentrationsgröße meßbar. Ausgedrückt wird sie als minimale Hemmkonzentration (MHK) in mcg/ml oder E/ml. Sie ist ein wichtiger Parameter und eine wesentliche Richtlinie für die Dosierung eines Antibiotikums.

Die bakterizide Wirkung eines Antibiotikums wird in der Regel durch die Bestimmung der minimalen bakteriziden Konzentration (MBK) beurteilt. Dieses Verfahren gibt freilich nur Auskunft über die totale Bakterizidie nach einer unphysiologischen Einwirkungszeit von 24 Stunden. Für die moderne bakterizide Therapie ist dagegen die bislang nur wenig untersuchte Kinetik der Bakterizidie von größerer Bedeutung.

In der folgenden Arbeit soll bei Enterobakterien der zeitliche und quantitative Ablauf mit den für die Behandlung in Frage kommenden Antibiotika geprüft werden. Wir verwandten die Membran-filter Methode, die die Einwirkung des Antibiotikums am besten unterbricht.

II. Material und Methode

Bakterizidie-Untersuchungen wurden mit der Membran-Filter Methode durchgeführt. Die Grundlagen dieser Methode ist in den Arbeiten von Klein (1), Sous (6), Vömel (8), und Oberzill (2) dargelegt. Sie wurde für unsere Untersuchungen geringgradig modifiziert und hat sich in 2 Arbeiten gut bewährt. (Stille/Rawer) (7) und (Seifert) (5).

Die Untersuchungen erfolgten an Enterobakterien, die vom Dezember 1970 bis April 1971 an unserer Klinik isoliert wurden. Die Stämme wurden entsprechend den bei Sedláček Rische (3) angegebenen Untersuchungskriterien für gram-negativen Keime eingeordnet.

Die Keime wurden in Antibiotic Medium 3 (Bacto Pennasay Broth, dehydrated = ABM 3) bei 37° C den Antibiotika ausgesetzt. Zur Einsaat verwendeten wir 0,1 ml einer 9:1 verdünnten 4 Stunden bei 37° bebrüteten Vorkultur in Kolben mit 10 ml ABM 3. Zur Zählung wurde 0,5 ml aus den Kolben entnommen und eine Verdünnungsreihe mit 4,5 ml NaCl (0,9%) hergestellt. Die einzelnen Verdünnungsstufen wurden auf ein Membran-Filter (Sartorius, Porengröße 0,2 µ, 50 mm Nr. 11407) gebracht und anschließend mit dem Membranfiltrationsgerät (Sartorius) mit 20 ml NaCl (0,9%) nachgespült um die Reste des jeweiligen Antibiotikums aus dem Filter zu entfernen. Das Filter wurde auf Standard I Agar (Merck) 24 Stunden bebrütet und die Kolonien nach 24 Stunden gezählt; kolonienbildende Einheiten wurden dabei den Keimzahlen gleichgesetzt. Die Abtötungsrate wurde nach 1, 2, 4, 8 und 24 Stunden bei Sulfamethoxazol/Trimethoprim, Trimethoprim, nach 10', 20', 30', 1, 2, 4, 8, und 24 Stunden bei Polymyxin B und 30', 1, 2, 4, 8, und 24 Stunden bei den restlichen Antibiotika durch Entnahme von 1,0 ml für das Original bzw 0,5 ml für die Verdünnungen bestimmt.

Der Vorteil dieser Methode besteht darin, daß man durch Nachspülen mit NaCl auch die letzten Reste des Antibiotikums entfernen kann. Hierdurch ist eine quantitative Beurteilung der Bakterizidie möglich.

Geprüft wurden folgende Antibiotika:

Ampicillin:	Escherichia coli, Proteus mirabilis, Salmonella heidelberg und münchen
Cephalothin:	Escherichia coli, Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae
Carbenicillin:	Escherichia coli, Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae
Penicillin:	Escherichia coli, Proteus mirabilis
Kanamycin:	Escherichia coli, Proteus mirabilis et vulgaris, Klebsiella pneumoniae
Gentamycin:	Escherichia coli, Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae, Salmonella heidelberg und münchen
Polymyxin B:	Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Salmonella heidelberg und münchen
Sulfamethoxazol/ Trimethoprim :	Escherichia coli, Salmonella heidelberg und münchen, Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae
Trimethoprim:	Escherichia coli, Salmonella heidelberg und münchen
Chloramphenicol:	Escherichia coli
Tetracyclin:	Escherichia coli

III. Eigene Ergebnisse

A. Grundsätzliches zur Bakterizidie:

Die Abtötungskurven verlaufen im allgemeinen so wie die folgende Abbildung zeigt:

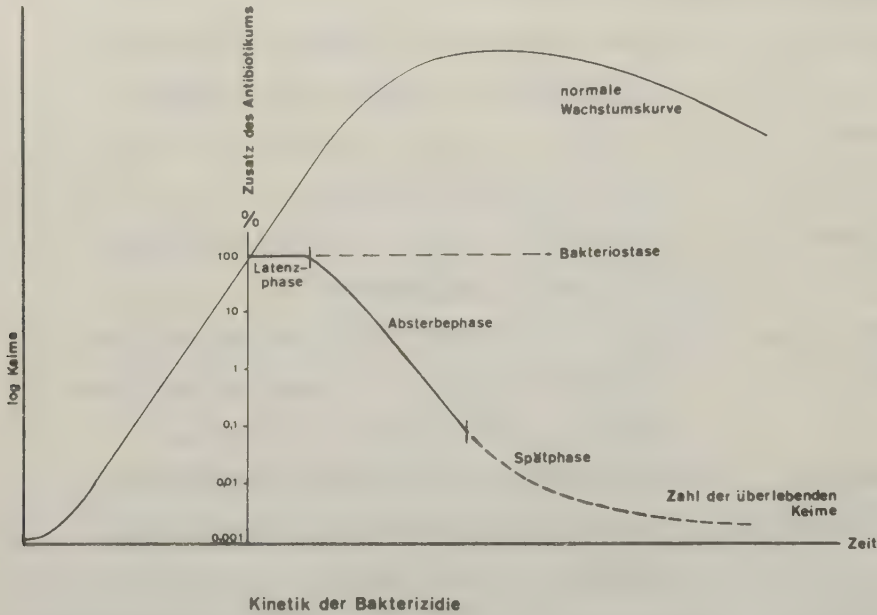


Abb. 1

Latenzphase: in der Regel kurz (5-15 Minuten). In dieser Zeit erfolgt die Penetration des Antibiotikums in die Bakterienzellen.

Absterbephase: Durch die Antibiotikawirkung kommt es in dieser Zeit zum Absterben der Keime. Nach Oberzill (2) nimmt die Zahl der überlebenden Keime proportional der Wirkungsdauer des Antibiotikums ab. Die Zahl der Überlebenden ergibt sich nach Oberzill (2) durch den Exponenten:

$$N = N_0 \times e^{-a \times t}$$

wobei N_0 = Ausgangskeimzahl, N = Zahl der Überlebenden Keime zur Zeit t und a = eine von der Intensität der Einwirkung abhängige Konstante sind.

Bei semilogarithmischer Darstellung wird die Kurve in der Absterbephase zu einer Geraden.

Spätphase: In dieser Phase nimmt die Keimzahl wesentlich langsamer ab als in der Absterbephase. Dies entspricht dem

Persistenzphänomen (9). Nach 8 Stunden kann es auch zum Auswachsen der Keime kommen, besonders bei Substanzen die zum Einschnittresistenz neigen oder bei Inaktivierung des Antibiotikums.

Bei der Auswertung der Ergebnisse wurde die Einsaat als 100 % gesetzt und die Überlebenden in % dieser Zahl angegeben.

B. Antibiotika

1. Ampicillin

1.1. Der Verlauf der Bakterizidie von 10 mcg/ml Ampicillin gegenüber E. coli ist homogen. Wir testeten insgesamt 10 E. coli Stämme. Die Tab. 1 zeigt den Ablauf der Bakterizidie:

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	30 min.	% 1 h	der 2 h	Überlebenden Keime 4 h	8 h	24 h
5471	10	$8,43 \cdot 10^7$	2,5	0,02	0,00013	0,00001	0	0
4102	10	$4,21 \cdot 10^6$	38,4	0,4	0,0023	0	0	0
4147	5	$1,59 \cdot 10^7$	5,30	0,19	0,0027	0,0006	0	0
4151	10	$5,55 \cdot 10^6$	2,8	0,14	0,007	0,0004	0	0
1011	10	$1,66 \cdot 10^7$	18,7	0,56	0,007	0,003	0,0001	0
1014	10	$3,61 \cdot 10^7$	2,2	0,016	0,0007	0,0001	0	0
1036	10	$1,86 \cdot 10^7$	0,27	0,0035	0	0	0	0
1317	5	$6,43 \cdot 10^6$	2,4	0,007	0,0003	0	0	0
1328	5	$8,88 \cdot 10^6$	1,3	0,14	0,001	0	0	0
1383	5	$8,88 \cdot 10^6$	6,9	0,02	0,002	0,0002	0	0
Mittelwerte:			8,1	0,14	0,0025	0,0004	0	0

Tab. 1 Bakterizidie von 10 mcg/ml Ampicillin gegenüber E. coli

Die Abb. 2 zeigt die graphische Darstellung der Kinetik der Bakterizidie von 10 mcg/ml Ampicillin gegenüber E. coli.

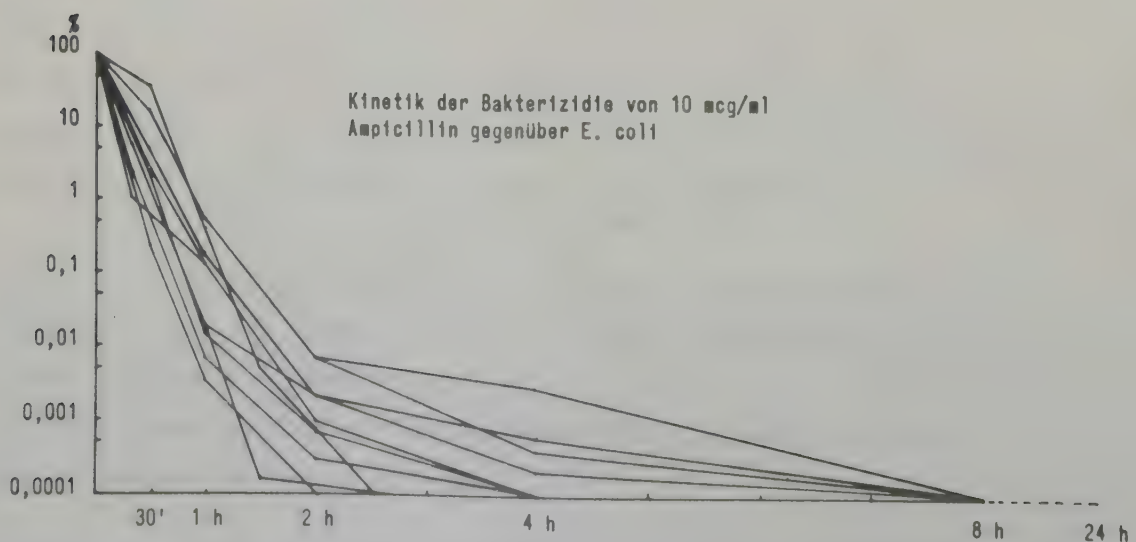


Abb. 2

1.2. Die Resultate der Bakterizidie-Bestimmungen von 10 mcg/ml Ampicillin gegenüber *Proteus mirabilis* sind in der Tab. 2 dargestellt.

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	30 min.	% 1 h	der 2 h	überlebenden 4 h	8 h	Keime 24 h
4090	1,25	$7,54 \cdot 10^5$	3,7	0,3	0,0028	0	0	0
3882	2,5	$3,9 \cdot 10^6$	9,4	0,01	0,00056	0	0	0
Mittelwerte:			6,5	0,15	0,0016	0	0	0

=====

Tab. 2 Bakterizidie von 10 mcg/ml Ampicillin
gegenüber *Proteus mirabilis*

Die Bakterizidie von 10 mcg/ml Ampicillin gegenüber *Proteus mirabilis* ist in der Abb. 3 graphisch dargestellt.

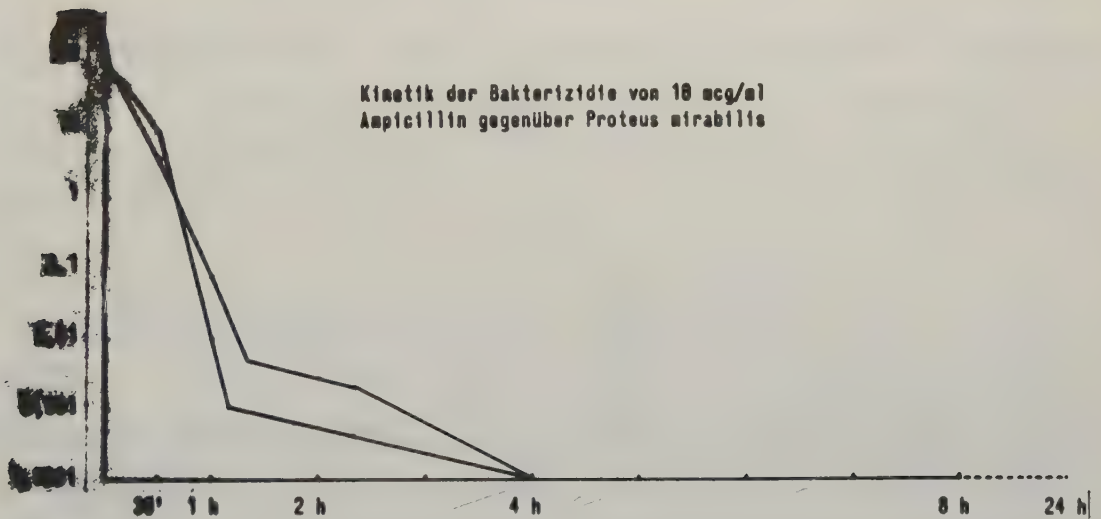


Abb. 3

1.3. Einen langsameren Abfall der Keimzahl als bei *Proteus mirabilis* zeigt sich bei der Exposition von *Salmonellen* gegen 10 mcg/ml Ampicillin. Die Tab. 3 zeigt den Ablauf der Bakterizidie von 10 mcg/ml Ampicillin gegenüber *Salmonella heidelberg* (3683) und *Salmonella münchen* (4240). Für die graphische Darstellung siehe Abb. 4.

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	30 min.	% 1 h	der 2 h	Überlebenden 4 h	8 h	Keime 24 h
3683	5	$1,88 \cdot 10^6$	1,7	0,09	0,004	0,0019	0	0
4240	2,5	$1,77 \cdot 10^5$	19,6	6,5	0,12	0,005	0	0
Mittelwerte:			10,6	3,2	0,06	0,003	0	0

Tab. 3 Bakterizidie von 10 mcg/ml Ampicillin
gegenüber Salmonellen

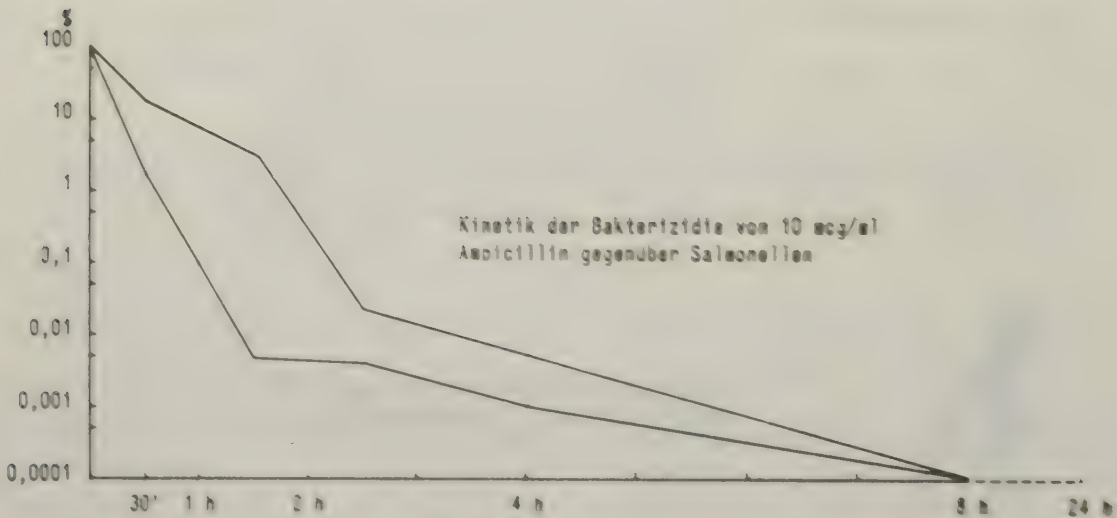


Abb. 4

2. Cephalothin

2.1. Cephalothin (10 mcg/ml) als Antibiotikum aus der Penicillin-
gruppe zeigt einen ähnlich schnellen Abfall der Keimzahl wie
Ampicillin gegenüber E. coli. (Tab. 4)

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	30 min.	% 1 h	der 2 h	Überlebenden 4 h	8 h	Keime 24 h
4102	10	$2,98 \cdot 10^5$	62,15	3,3	0,003	0,0015	0	0
4147	10	$3,33 \cdot 10^5$	119,3	4,3	0,007	0	0	0
Mittelwerte:			90,9	4,1	0,005	0,0007	0	0

Tab. 4 Bakterizidie von 10 mcg/ml Cephalothin
gegenüber E. coli

Die Abb. 5 zeigt die graphische Darstellung der Kinetik der
Bakterizidie von 10 mcg/ml Cephalothin gegen E. coli.

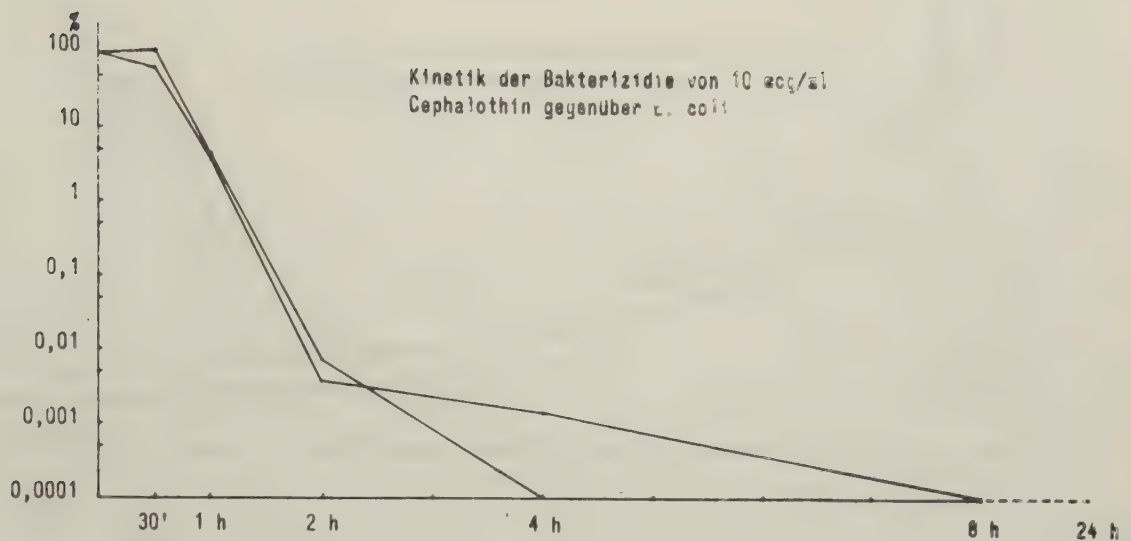


Abb. 5

2.2. Nach anfänglich schnellen Abfall der Keimzahl bei Exposition von *Proteus mirabilis* mit 10 mcg/ml Cephalothin bleibt eine Persister-Rate von 0,001 bei dem Stamm 4090 bzw. 0,0004 bei dem Stamm 3882 (8 h Wert). Tab. 5)

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	30 min.	% 1 h	der 2 h	Überlebenden 4 h	8 h	Keime 24 h
4090	5	$1,73 \cdot 10^6$	7,1	0,49	0,019	0,0025	0,001	0,0034
3882	10	$9,54 \cdot 10^6$	0,12	0,16	0,018	0,001	0,0004	0,0004
Mittelwerte:			3,6	0,33	0,018	0,0017	0,0007	0,0019

Tab. 5 Bakterizidie von 10 mcg/ml Cephalothin gegenüber *Proteus mirabilis*

Bereits nach 4 h waren bei Ampicillin die Proben steril. Bei Cephalothin (10 mcg/ml) zeigt sich nach 24 h eine Persister-rate von 0,0034 (Stamm 4090) und 0,0004 (Stamm 3882). Abb. 6

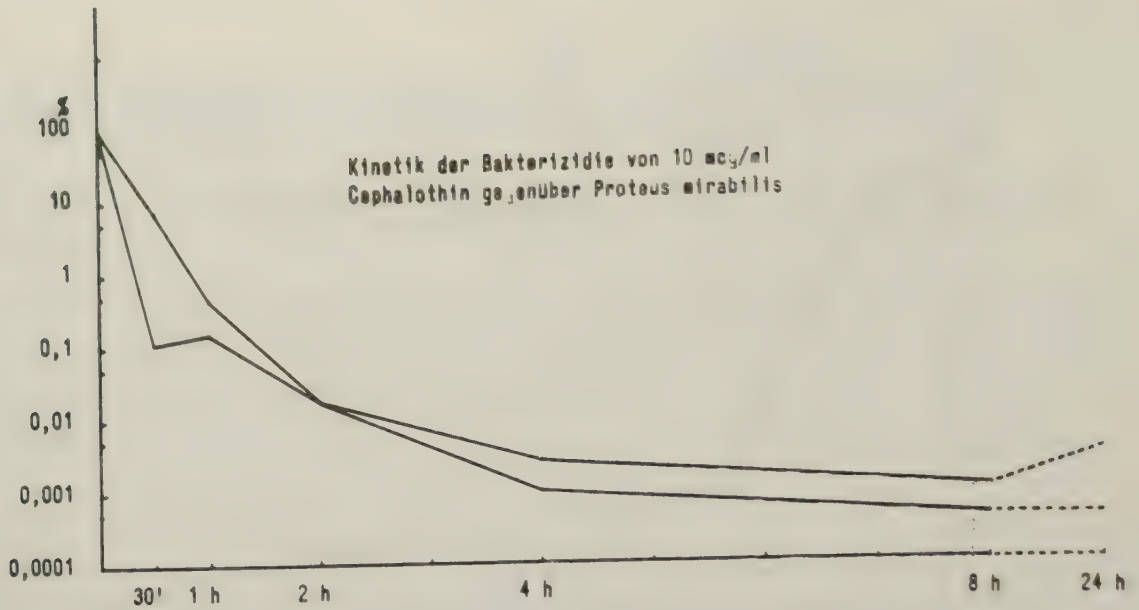


Abb. 6

2.3. Der bakterizide Effekt von 10 mcg/ml Cephalothin gegenüber Klebsiellen ist gut und bei allen von uns getesteten Keimen einheitlich. Tab. 6

Nr.	MHK	Ausgangs- mcg/ml keimzahl	30 min.	% 1 h	der 2 h	überlebenden 4 h	8 h	Keime 24 h
3969	1,25	$9,99 \cdot 10^7$	2,30	0,08	0,0015	0,0002	0,00004	0
442	1,25	$1,42 \cdot 10^7$	53,0	0,64	0,03	0,004	0,0001	>100
1370	5	$3,33 \cdot 10^6$	19,3	0,43	0,005	0,001	0,007	>100
1345	5	$4,21 \cdot 10^6$	48,4	4,37	0,02	0,01	0,005	0
Mittelwerte:			30,7	1,38	0,014	0,003	0,003	

Tab. 6 Bakterizidie von 10 mcg/ml Cephalothin
gegenüber Klebsiellen

Der Keimzahlabfall bei dem Stamm 3969 ist schneller als bei den übrigen 3 Stämmen. Die Stämme 442 und 1370 wachsen offenbar durch Inaktivierung des Cephalothins nach 24 h aus. (Abb. 7)

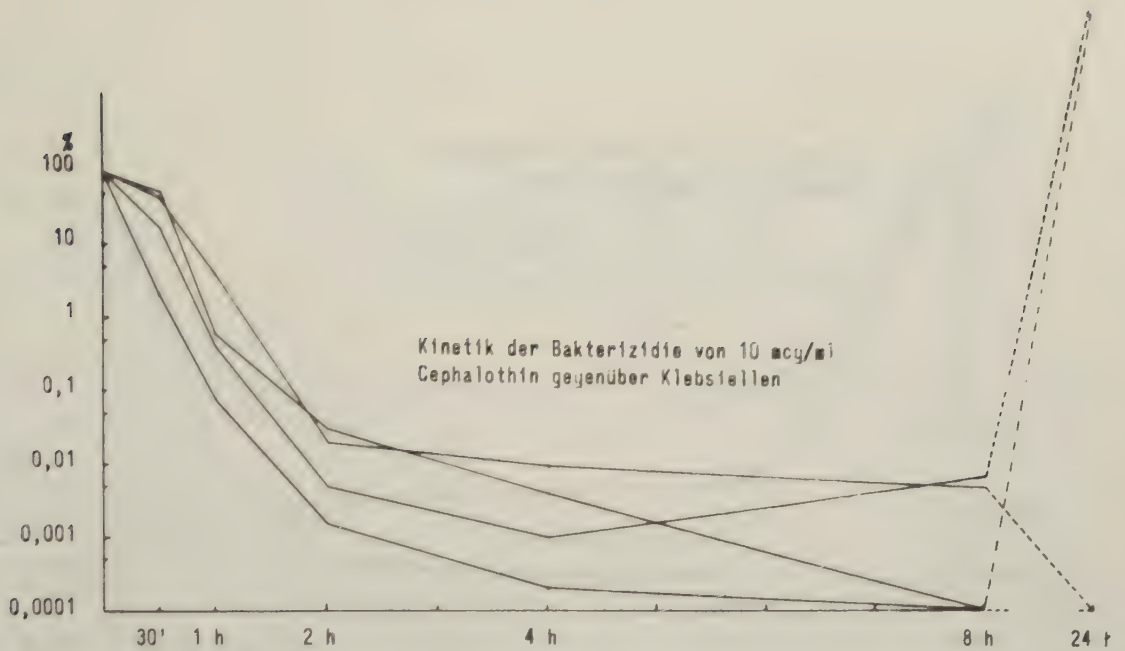


Abb. 7

3. Carbenicillin

3.1. Die Resultate der Bakterizidie-Bestimmungen von 10 mcg/ml Carbenicillin gegenüber E. coli sind in der Tab. 7 dargestellt:

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	% 30 min.	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h
4102	0,3	$8,52 \cdot 10^8$	7,27	0,78	0,00033	0,00033	nd	26,31
5471	5	$6,88 \cdot 10^7$	26,74	0,29	0,029	4,63	nd	>100
4147	0,6	$9,32 \cdot 10^6$	11,9	0,073	0,0018	0,0015	0,0005	0,00002
Mittelwerte:			15,3	0,38	0,01	1,34		

Tab. 7 Bakterizidie von 10 mcg/ml Carbenicillin
gegenüber E. coli

Der bakterizide Ablauf von 10 mcg/ml Carbenicillin gleicht am Anfang den von Ampicillin (10 mcg/ml). Beim Stamm 4102 und 5471 kommt es jedoch zum Auswachsen. (Abb. 8)

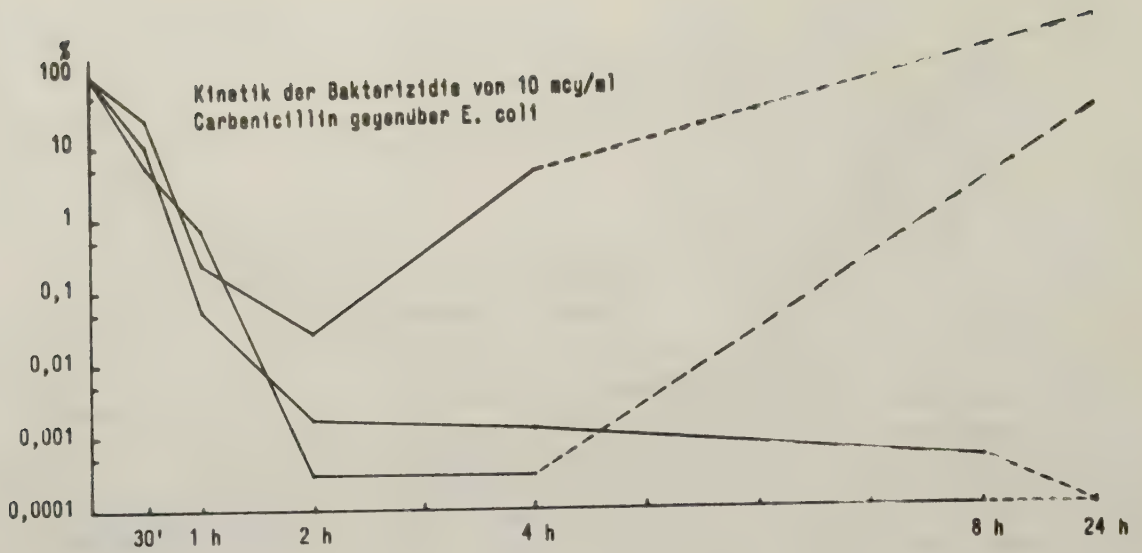


Abb. 8

3.2. Den bakteriziden Effekt von 10 mcg/ml Carbenicillin gegenüber *Proteus mirabilis* zeigt die Tab. 8:

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	% 30 min.	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h
4090	1,25	$7,99 \cdot 10^5$	7,2	0,008	0,0055	0	0	0
3882	1,25	$2,66 \cdot 10^6$	3,3	0,027	0,0016	0,00077	0,00077	0,00077
Mittelwerte:			5,1	0,017	0,0035	0,00038	0,00038	0,00038

Tab. 8 Bakterizidie von 10 mcg/ml Carbenicillin gegenüber *Proteus mirabilis*

Genauso wie beim Cephalothin ist eine gewisse Persister-rate bei den Versuchen mit 10 mcg/ml Carbenicillin gegenüber *Proteus mirabilis* festzustellen. (Abb. 9)

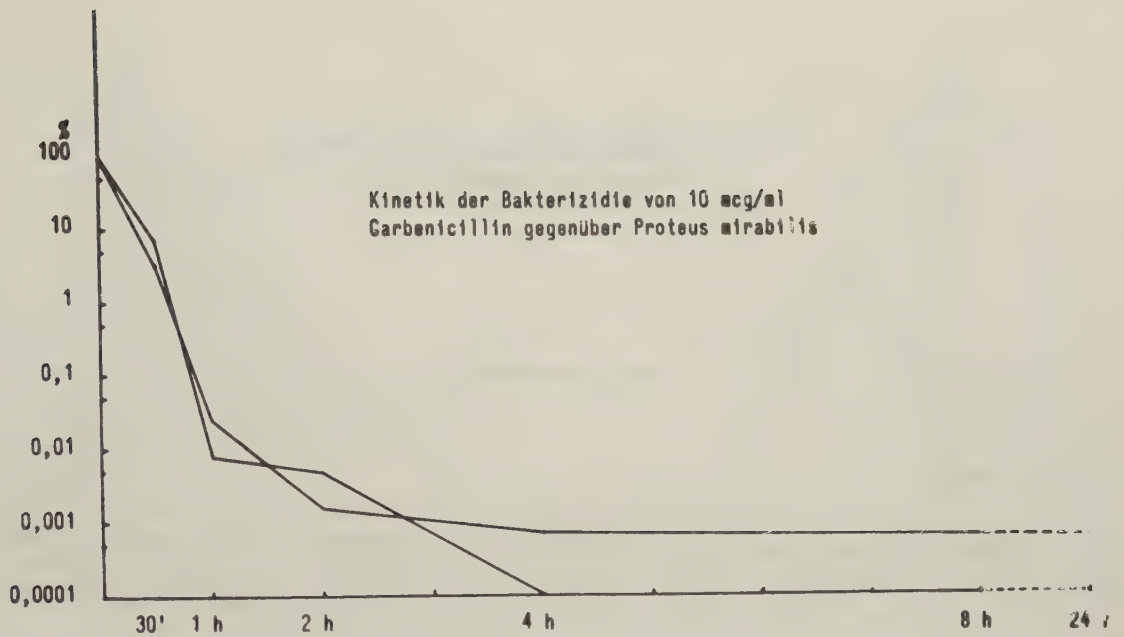


Abb. 9

4. Penicillin G

4.1. Auch Penicillin G ist genauso bakterizid wie Ampicillin. Die folgende Tab. 9 zeigt den Effekt von 100 E/ml Penicillin G gegenüber *E. coli*. Abb. 10 zeigt die graphische Darstellung der Ergebnisse.

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	% 30 min.	1 h	2 h	Überlebenden 4 h	8 h	Keime 24 h
4102	nd	$1,95 \cdot 10^6$	7,2	0,34	0,032	0,028	0,0008	0,00001
4147	nd	$7,32 \cdot 10^6$	22,1	0,11	0,001	0	0	0
Mittelwerte:			9,8	0,23	0,016	0,014	0,0004	

Tab. 9 Bakterizidie von 100 E/ml Penicillin G
 gegenüber *E. coli*

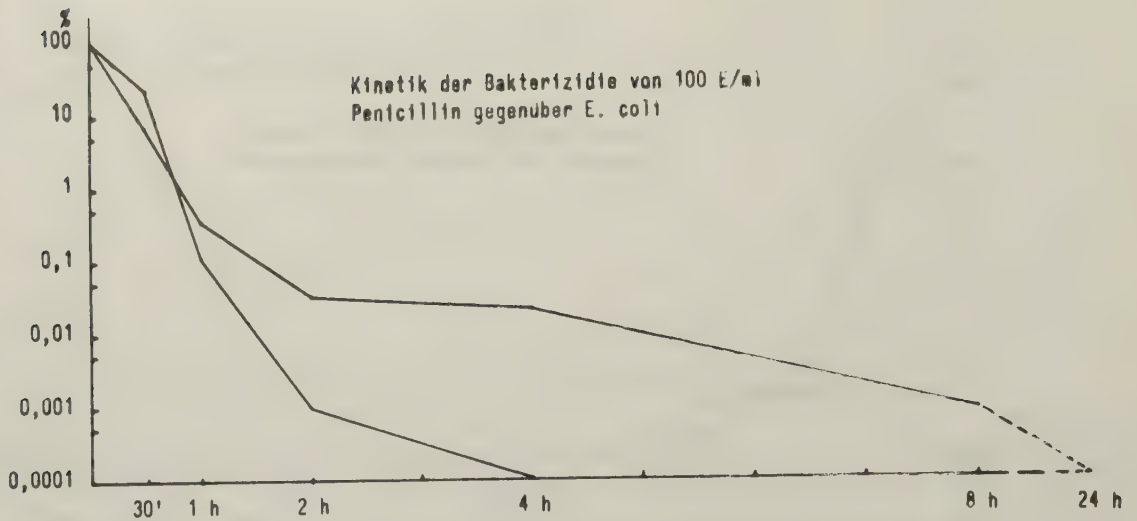


Abb. 10

4.2. Die Resultate der Bakterizidie-Bestimmungen von 100 E/ml Penicillin G gegenüber *Proteus mirabilis* sind in der Tab. 10 dargestellt.

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	% 30 min.	1 h	2 h	Überlebenden 4 h	8 h	Keime 24 h
4090	nd	$1,86 \cdot 10^6$	1,1	0,14	0,025	0	0	0
3882	nd	$2,22 \cdot 10^6$	4,5	0,1	0,0001	0	0	0
Mittelwerte:			2,8	0,12	0,013	0	0	0

Tab. 10 Bakterizidie von 100 E/ml Penicillin G
gegenüber *Proteus mirabilis*

Hier zeigt sich einen ähnlichen Verlauf wie bei Ampicillin. Abb. 11

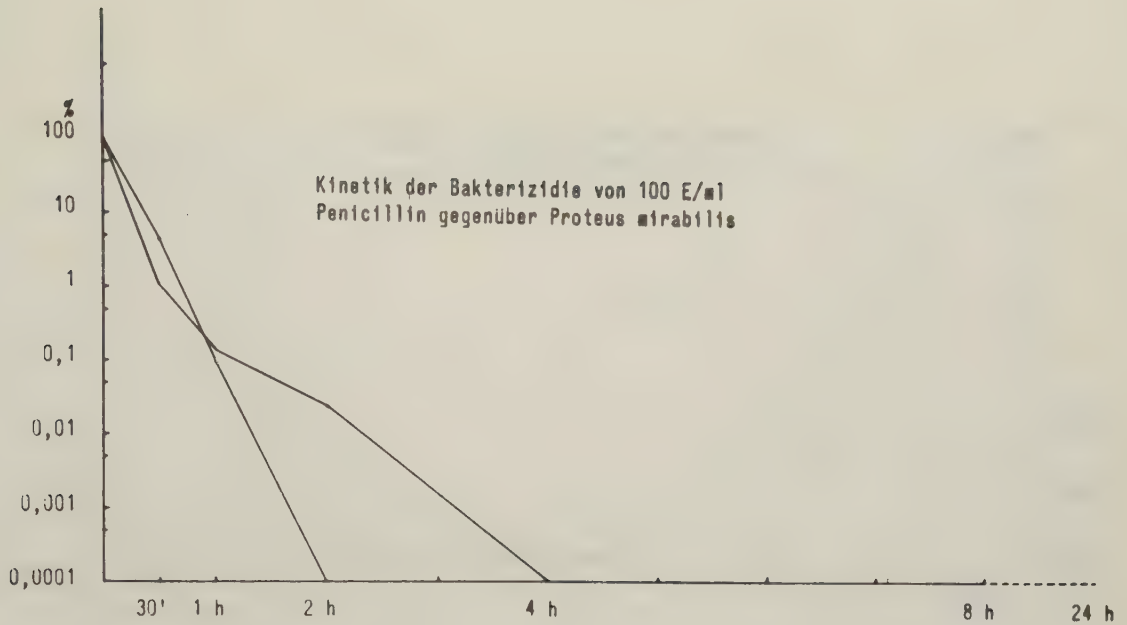


Abb. 11

5. Kanamycin

5.1. Wir testeten 10 mcg/ml Kanamycin gegen *E. coli*. Hierbei erfolgte eine rasche Abtötung der Keime. Tab. 11

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	% 30 min.	1 h	2 h	überlebenden 4 h	8 h	Keime 24 h
4102	5	$1,75 \cdot 10^6$	93,5	1,17	0,053	0	0	0
4147	2,5	$2,44 \cdot 10^7$	46,31	0,041	0,004	0	0	0
Mittelwerte:			69,9	0,6	0,028	0	0	0

Tab. 11 Bakterizidie von 10 mcg/ml Kanamycin gegenüber *E. coli*

Die Abb. 12 zeigt die graphische Darstellung der Bakterizidie von 10 mcg/ml Kanamycin gegenüber *E. coli*.

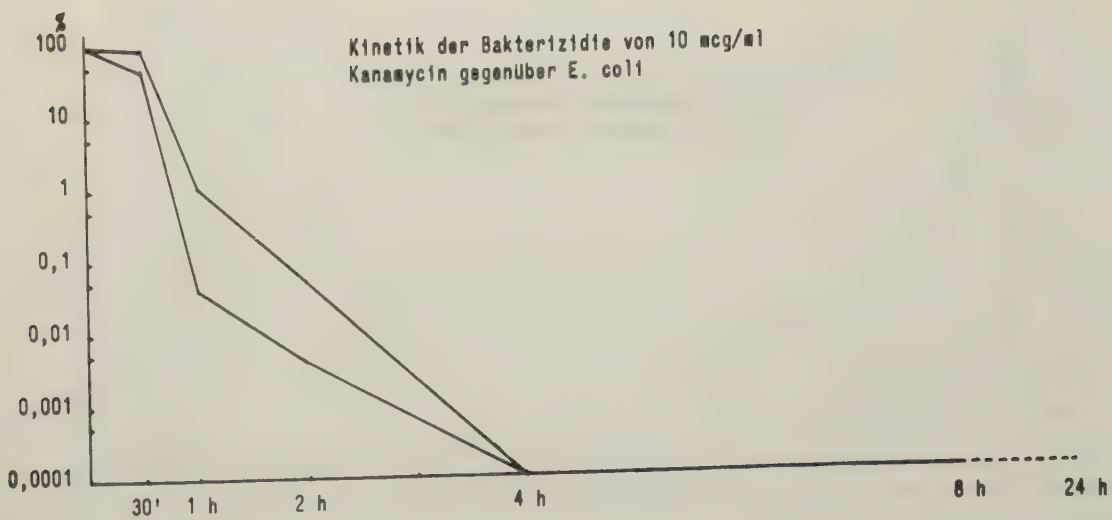


Abb. 12

5.2. Die Resultate der Bakterizidie-Bestimmungen von 10 mcg/ml : Kanamycin gegenüber *Proteus mirabilis* (Stamm Nr. 4090) und *Proteus vulgaris* (Stamm Nr. 406) sind in der Tab. 12 dargestellt.

Nr.	MHK	Ausgangs- keimzahl	30 min.	% 1 h	der 2 h	Überlebenden 4 h	8 h	Keime 24 h
4090	2,5	$1,93 \cdot 10^6$	51,7	0,14	0	0	0	0
406	5	$2,28 \cdot 10^6$	103,9	5,61	0,01	0	0	0

Tab. 12 Bakterizidie von 10 mcg/ml Kanamycin gegenüber *Proteus mirabilis* (4090) und *Proteus vulgaris* (406)

Die Abb. 13 zeigt die graphische Darstellung der Bakterizidie von 10 mcg/ml Kanamycin gegenüber *Proteus mirabilis* et *vulgaris*.

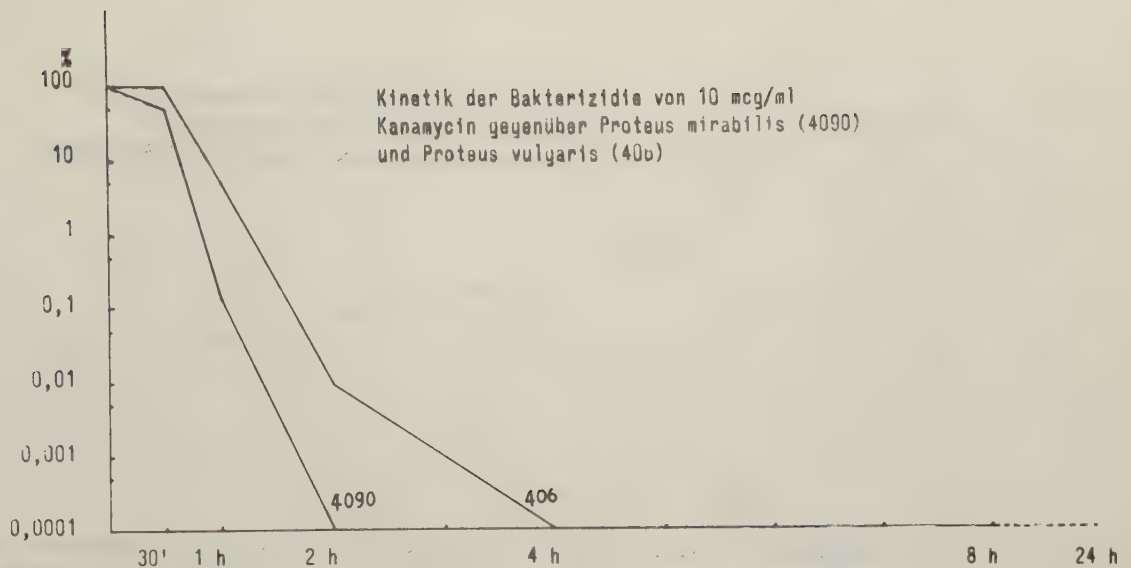


Abb. 13

5.3. Die Empfindlichkeit der von uns getesteten Klebsiellen Stämme gegenüber Kanamycin war sehr uneinheitlich. Nur beim Stamm 442 war bei Exposition mit 5 mcg/ml Kanamycin eine deutliche Bakterizidie festzustellen. Die restlichen zwei Stämme (3969,1345) wurden mit 10 mcg/ml getestet. Die Resultate sind in der Tab. 13 dargestellt. Die Abb. 14 zeigt die graphische Darstellung der Ergebnisse.

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	% 30 min.	der 1 h	Überlebenden 2 h	4 h	8 h	Keime 24 h
442	1,25	$7,10 \cdot 10^6$	134,3	183,09	1,4	0,4	0,018	0,00031
3969	2,5	$2,08 \cdot 10^6$	26,6	0	0	0	0	0
1345	2,5	$1,04 \cdot 10^7$	0,003	0,002	0	0	0	0
Mittelwerte: (3969, 1345)			13,3	0,001	0	0	0	0

Tab. 13 Bakterizidie von 10 mcg/ml Kanamycin
gegenüber Klebsiellen (3969,1345) und 5 mcg/ml
Kanamycin gegenüber Klebsiellen (442)

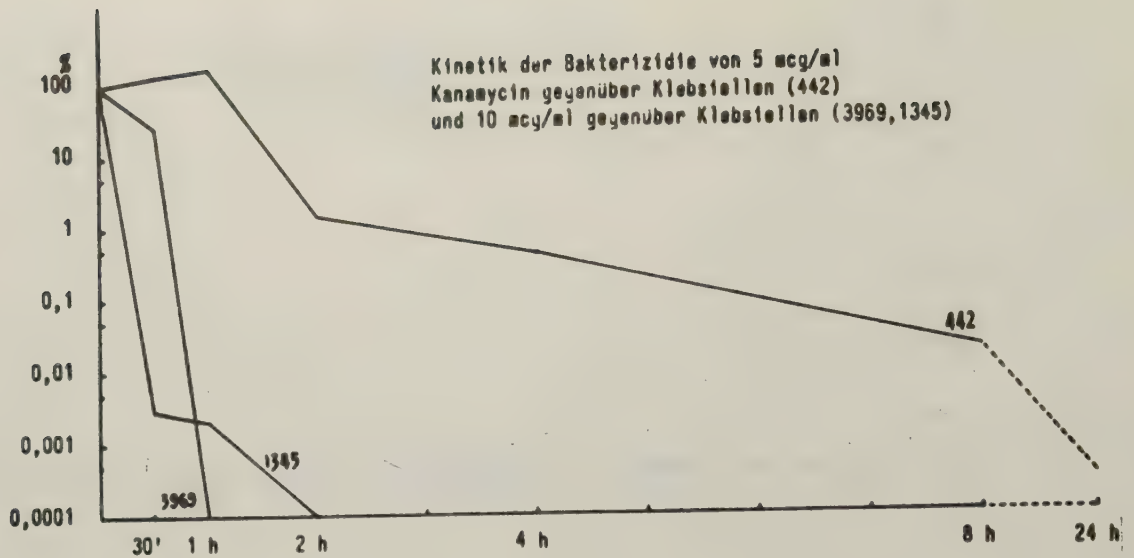


Abb. 14

6. Gentamycin

6.1. Nach einer - verglichen mit anderen Antibiotika - relativ langen Latenzphase von 30 min. setzte die antibakterielle Wirkung von Gentamycin (5 mcg/ml) gegen E. coli ein. Tab. 14

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	30 min.	% 1 h	der 2 h	Überlebenden 4 h	8 h	Keime 24 h
4102	5	$3,99 \cdot 10^6$	380,9	88,9	0,057	0,019	nd	>100
4147	5	$2,06 \cdot 10^6$	120,3	61,1	0,037	0,32	nd	>100
Mittelwerte:			250,6	75	0,047	0,17		

Tab. 14 Bakterizidie von 5 mcg/ml Gentamycin gegenüber E. coli

Nach 24 h ist es zum Auswachsen von persistierenden Keimen gekommen. Hier liegt offenbar eine Einschnitt-resistenz Entwicklung vor.

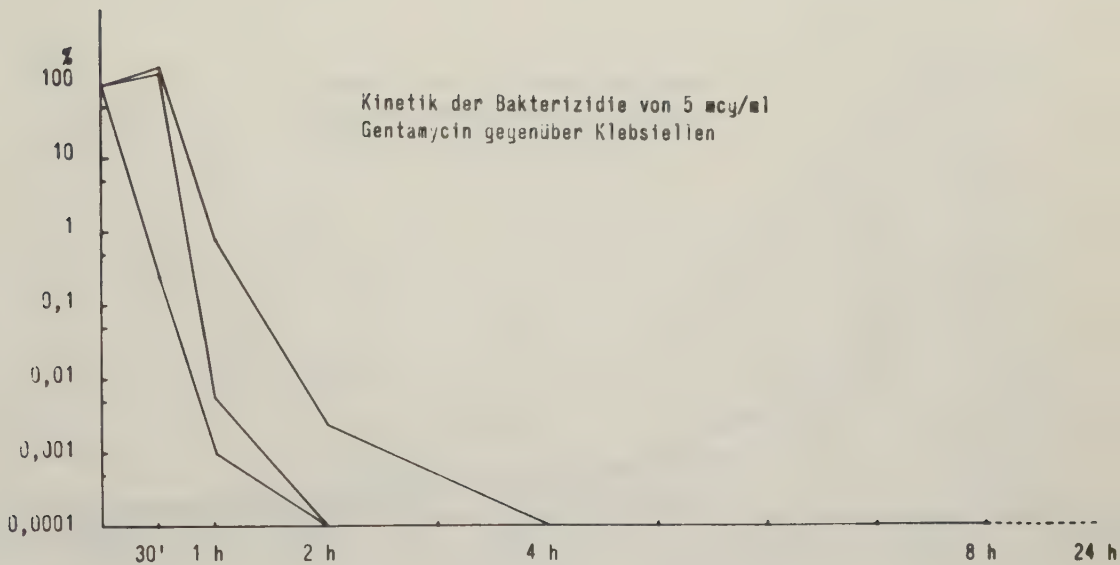


Abb. 17

6.4. Der bakterizide Effekt von 5 mcg/ml Gentamycin gegenüber Salmonellen (Nr. 3683 = *Salmonella heidelberg* und Nr. 4240 = *Salmonella münchen*) ist in der Tab. 17 dargestellt.

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	30 min.	% 1 h	der 2 h	überlebenden 4 h	3 h	Keime 24 h
3683	5	$1,48 \cdot 10^7$	118,9	0,0037	0,0008	0,00029	0	0
4240	5	$3,99 \cdot 10^6$	325,8	0,01	0,0027	0,00011	0	0
Mittelwerte:			222,2	0,0068	0,0017	0,0002	0	0

Tab. 17 Bakterizidie von 5 mcg/ml Gentamycin gegenüber *Salmonella heidelberg* und *münchen*

Auch hier zeigt sich eine deutliche Latenzphase. Abb. 18

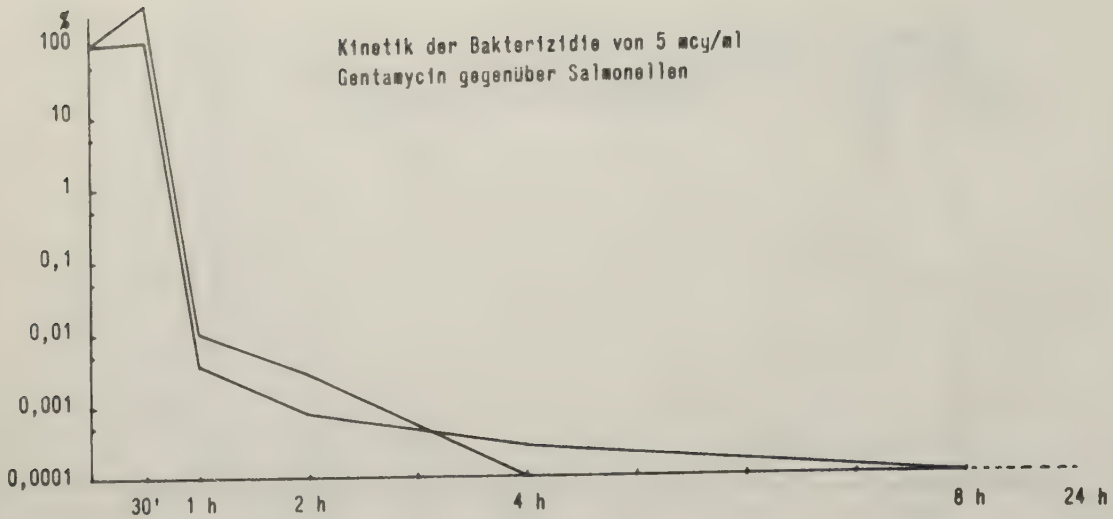


Abb. 18

7. Polymyxin B

7.1. Der Ablauf der Bakterizidie von 2 mcg/ml Polymyxin B gegenüber E. coli erfolgt in sehr kurzer Zeit. Zur Erfassung der bakteriziden Wirkung entnahmen wir in den ersten 30 min. alle 10 min. Proben zur Keimzahlbestimmung. Die Tab. 18 stellt die Ergebnisse dar.

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	% der		überlebenden Keime			
			10 min.	20 min.	30 min.	1 h	2 h	4 h
4102	2,5	$1,28 \cdot 10^7$	0,016	0,0052	0,00034	0,00017	0	0
3376	1,25	$1,19 \cdot 10^6$	0,19	0,014	0,005	0	0	0
Mittelwerte:			0,1	0,09	0,0026	0,00008	0	0

Tab. 18 Bakterizidie von 2 mcg/ml Polymyxin B
gegenüber E. coli

Die Abb. 19 zeigt die graphische Darstellung der Bakterizidie von 2 mcg/ml Polymyxin B gegenüber E. coli.

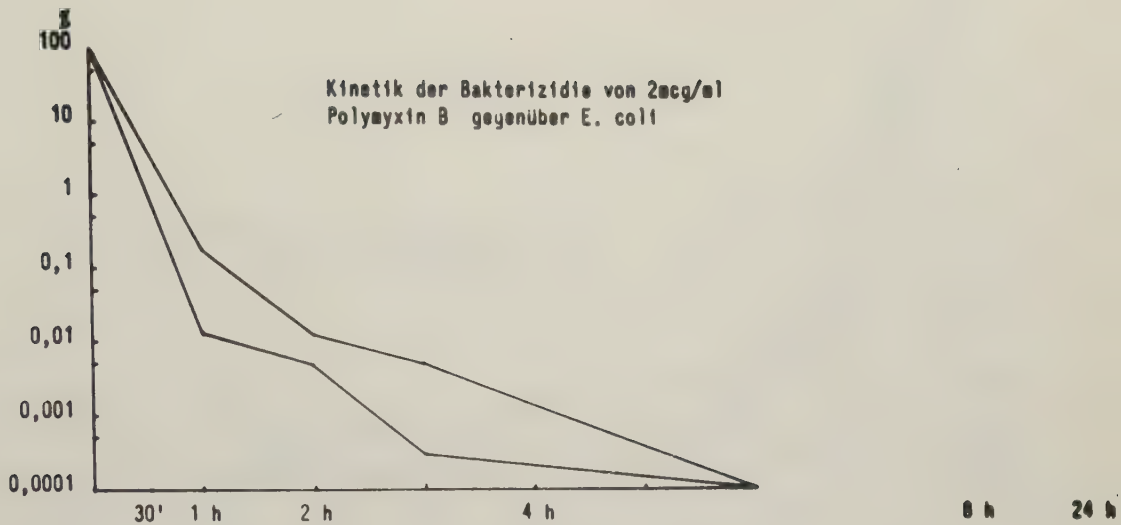


Abb. 19

7.2. Die Resultate der Bakterizidie-Bestimmung von 5 mcg/ml Polymyxin B gegenüber Klebsiellen ist in der Tab. 19 dargestellt. Beim Stamm 1370 waren bereits nach 10 min. keine Überlebenden festzustellen. (Abb. 20)

Nr.	MHK	Ausgangs- keimzahl	% 10 min.	der 20 min.	überlebenden 30 min.	1 h	2 h	4 h
433	5	$1,13 \cdot 10^7$	0,008	0,0001	0	0	0	0
442	5	$1,13 \cdot 10^6$	0,176	0	0	0	0	0
1345	5	$1,17 \cdot 10^7$	0,0017	0,0011	0,0005	0,0001	0	0
1370	5	$6,74 \cdot 10^7$	0	0	0	0	0	0
Mittelwerte:			0,044	0,0003	0,00012	0,00002	0	0

Tab. 19 Bakterizidie von 5 mcg/ml Polymyxin B gegenüber Klebsiellen

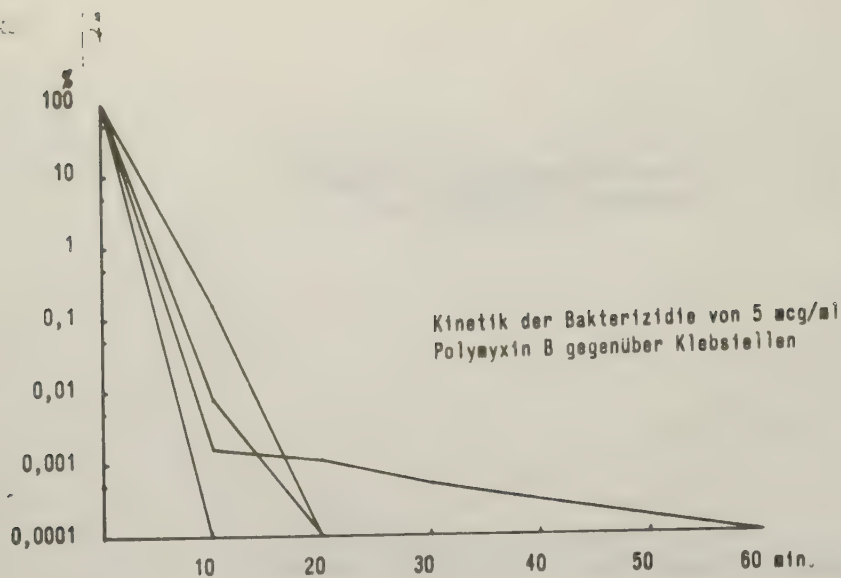


Abb. 20

7.3. Der Ablauf der Bakterizidie von 5 mcg/ml Polymyxin B gegenüber Salmonellen (Nr. 3683 = Salmonella heidelberg und Nr. 4240 = Salmonella münchen) ist in der Tab. 20 dargestellt. Der Ablauf ist sehr schnell.

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	% 10 min.	der 20 min.	Überlebenden 30 min.	Keime 1 h	2 h	4 h
3683	5	$1,70 \cdot 10^6$	0,001	0	0	0	0	0
4240	5	$2,66 \cdot 10^6$	0,004	0,0001	0	0	0	0
Mittelwerte:			0,0025	0,00005	0	0	0	0

Tab. 20 Bakterizidie von 5 mcg/ml Polymyxin B gegenüber Salmonella heidelberg und münchen

Die Abb. 21 zeigt die graphische Darstellung der Bakterizidie von 5 mcg/ml Polymyxin B gegenüber Salmonellen.

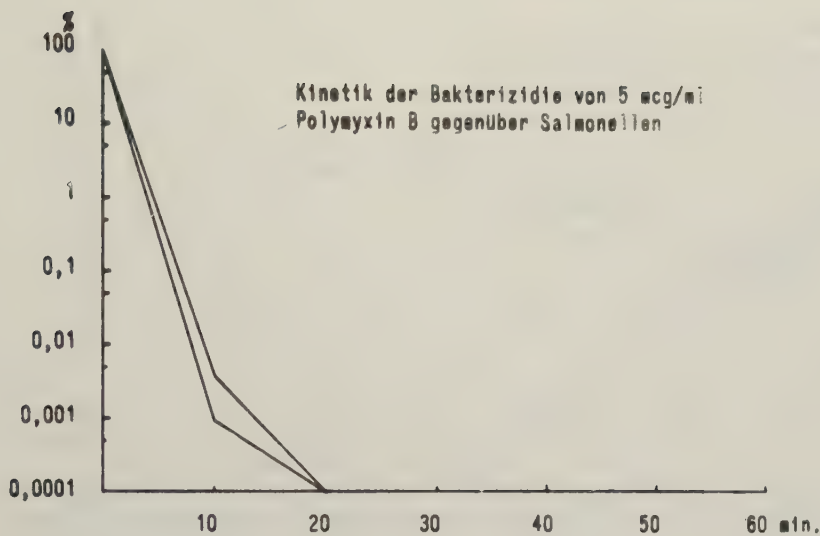


Abb. 21

8. 40 mcg/ml Sulfamethoxazol/ 2 mcg/ml Trimethoprim

8.1. Als Medium benutzten wir bei allen Versuchen mit Sulfamethoxazol/Trimethoprim das antagonistenfremde SR-Medium Difco. Die Tab. 21 stellt die Ergebnisse der Bakterizidie-Bestimmung von 40 mcg/ml Sulfamethoxazol/ 2 mcg/ml Trimethoprim gegenüber E. coli:

Nr.	MHK	MHK	Ausgangs- keimzahl	% 1 h	der Überlebenden Keime				
	mcg/ml Sulfa.	mcg/ml Trimeth.			2 h	4 h	8 h	24 h	
3376	12,5	0,3	$8,88 \cdot 10^3$	15,9	0	0	0	0	
4100	>100	0,3	$9,54 \cdot 10^3$	90,75	0,88	0	0	0	
4102	12,5	0,3	$2,55 \cdot 10^4$	0,041	0	0	0	0	
4147	12,5	0,6	$1,44 \cdot 10^7$	41,59	7,7	1,69	0,005	0	
4151	25	1,25	$1,46 \cdot 10^6$	148,6	69,86	24,31	0,1	0,0023	
1011	25	0,6	$3,33 \cdot 10^6$	39,93	12,64	0,0054	0,0004	0	
1014	25	0,6	$7,10 \cdot 10^6$	87,46	7,4	0,0015	0,00016	0,0001	
1034	25	0,6	$1,06 \cdot 10^7$	75,37	24,05	0,0015	0,0001	0	
1036	12,5	0,6	$1,13 \cdot 10^7$	58,93	17,43	0,05	0,0004	0,0001	
1082	12,5	0,3	$1,90 \cdot 10^6$	72,1	0,16	0	0	0	
Mittelwerte:				63,06	14,02	2,6	0,01	0,0002	

Tab. 21 Bakterizidie von 40 mcg/ml Sulfamethoxazol/
2 mcg/ml Trimethoprim

Der Ablauf der Bakterizidie ist bei den einzelnen Stämmen uneinheitlich. Die Abb. 22 zeigt die graphische Darstellung der Ergebnisse.

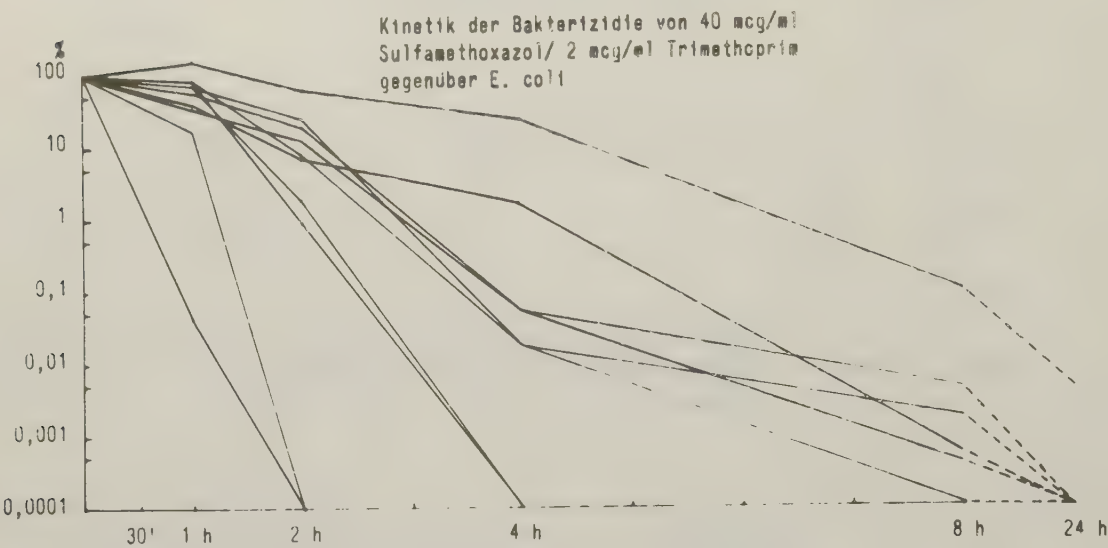


Abb. 22

8.2. Die Resultate der Bakterizidie-Bestimmungen von 40 mcg/ml Sulfamethoxazol/ 2 mcg/ml Trimethoprim gegenüber Salmonellen (Nr. 3683 = Salmonella heidelberg und Nr. 4240 = Salmonella münchen) sind in der Tab. 22 dargestellt.

Nr.	MHK	MHK	Ausgangs- keimzahl	% 1 h	der 2 h	überlebenden		Keime 24 h
	mcg/ml Sulfa.	mcg/ml Trimeth.				4 h	8 h	
3683	>100	1,25	$8,43 \cdot 10^4$	36,7	16,4	1,3	0,008	0,0047
4240	100	1,25	$6,88 \cdot 10^4$	13,8	0,5	0,03	0,016	0,014
Mittelwerte:				25,2	8,4	0,61	0,012	0,009

Tab. 22 Bakterizidie von 40 mcg/ml Sulfamethoxazol/
2 mcg/ml Trimethoprim gegenüber Salmonella
heidelberg und münchen

Nach 24 h sind in beiden Fällen Persister festzustellen. Die Abb. 23 zeigt die graphische Darstellung

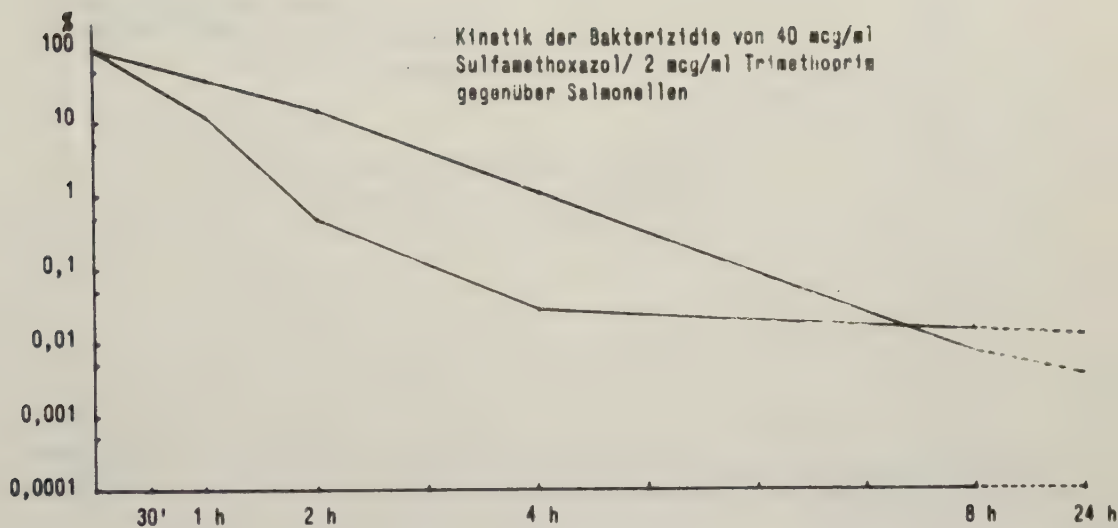


Abb. 23

8.3. Die Resultate der Bakteriezidie-Bestimmung von 40 mcg/ml Sulfamethoxazol/ 2 mcg/ml Trimethoprim gegenüber den Klebsiellen Stamm 3969 sind in der Tab. 23 dargestellt.

Nr.	MHK	MHK	Ausgangs- keimzahl	%	der	überlebenden .		Keime
	mcg/ml	mcg/ml				4 h	8 h	
	Sulfa.	Trimeth.		1 h	2 h			24 h
3969	50	0,3	3,74.10 ³	23,74	7,56	0,9	0,0026	0

Tab. 23 Bakterizidie von 40 mcg/ml Sulfamethoxazol/
2 mcg/ml Trimethoprim

Die graphische Darstellung von Bakterizidie-Ableuf von 40 mcg/ml Sulfamethoxazol/ 2 mcg/ml Trimethoprim gegenüber Klebsiellen ist in der Abb. 24.

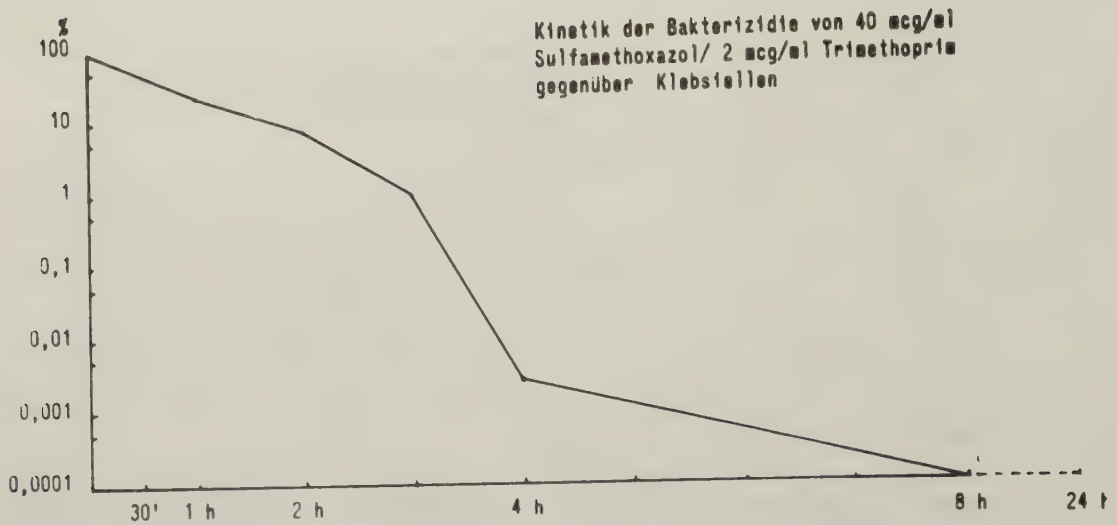


Abb. 24

8.4. Bei unseren Versuchen mit 40 mcg/ml Sulfamethoxazol/ 2 mcg/ml Trimethoprim gegenüber *Proteus mirabilis* fand sich bei dem Stamm 4090 keine und beim Stamm 3882 erst nach 24 h eine Bakterizidie. (Tab. 24)

Nr.	MHK	MHK	Ausgangs- keimzahl	%	der	Überlebenden		Keime
	mcg/ml	mcg/ml						
	Sulfam.	Trimeth.		1 h	2 h	4 h	8 h	24 h
3882	nd	nd	$11,76 \cdot 10^5$	853,8	651,2	284,6	nd	0,05
4090	nd	nd	$11,66 \cdot 10^4$	11982,7	11982,7	254545,4	nd	10000

Tab. 24 Bakterizidie von 40 mcg/ml Sulfamethoxazol/
2 mcg/ml Trimethoprim gegenüber *Proteus mirabilis*

Die graphische Darstellung von Bakterizidie-Ablauf von 40 mcg/ml Sulfamethoxazol/ 2 mcg/ml Trimethoprim gegenüber *Proteus mirabilis* ist in der Abb. 25.

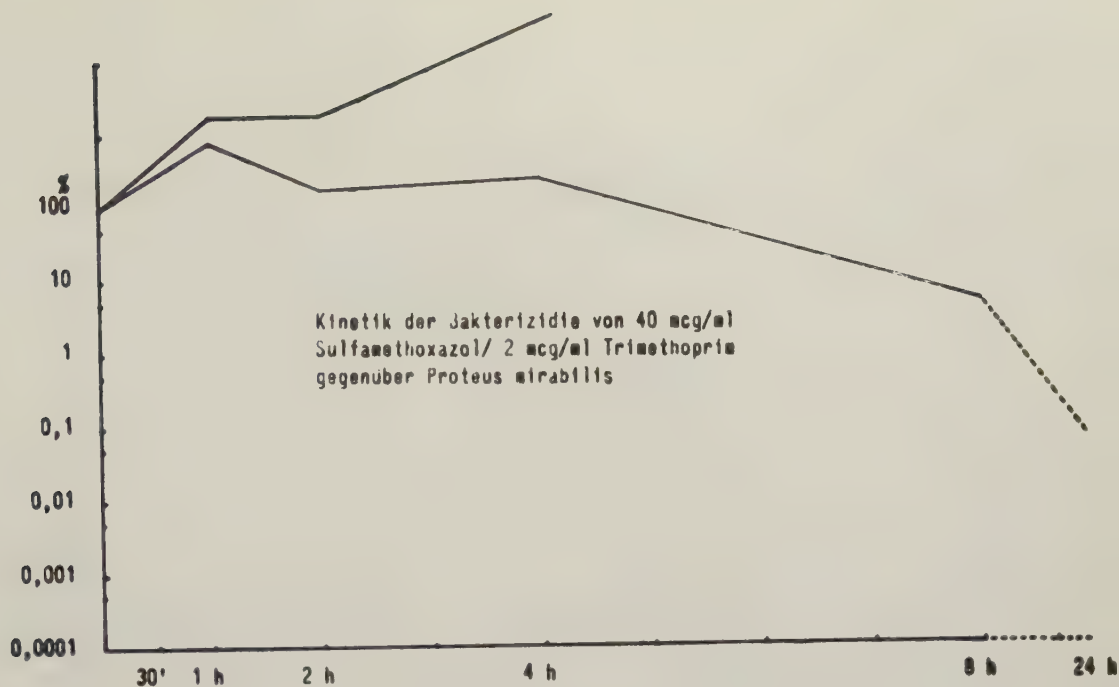


Abb. 25

9. 2 mcg/ml Trimethoprim

9.1. Die bakterizide Wirkung von 2 mcg/ml Trimethoprim gegenüber E. coli ist in gegensatz zur Kombination (Sulfamethoxazol/Trimethoprim) nur gering und führt zum schnellen Wiederauswachsen der Erreger.

Tab. 25

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	% 1 h	der 2 h	Überlebenden 4 h	8 h	Keime 24 h
3376	0,3	$1,84 \cdot 10^5$	66,30	39,78	361,95	nd	>100
4147	0,6	$1,15 \cdot 10^5$	61,73	0,009	501,73	nd	>100
Mittelwerte:			64,01	14,9			

Tab. 25 Bakterizidie von 2 mcg/ml Trimethoprim gegenüber E. coli

Die Abb. 26 zeigt die graphische Darstellung von Bakterizidie Effekt von 2 mcg/ml Trimethoprim auf E. coli.

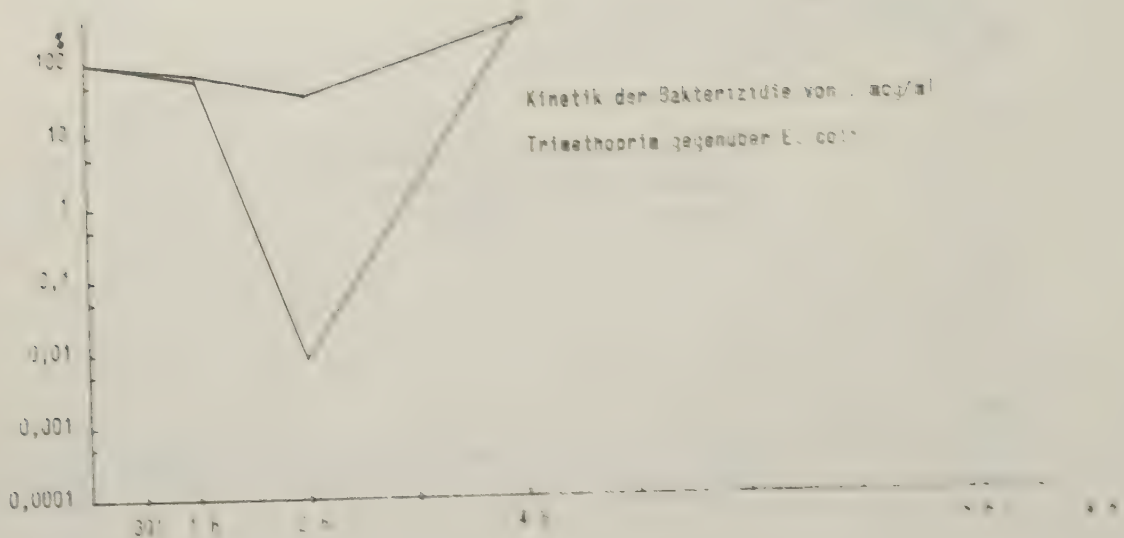


Abb. 26

9.2. Bei der Bakterizidie-Bestimmung von 2 mcg/ml Trimethoprim gegenüber *Salmonella heidelberg* (3683) und *Salmonell. münchen* (4240) stellten wir fest, daß nach einer Latenzzeit von einer Stunde die Keimzahl bis 8 Stunden abnimmt. Anschließend kommt es zum Auswachsen der Persister. (Tab. 26, Abb. 27)

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	% 1 h	der 2 h	Überlebenden 4 h	8 h	Keime 24 h
3683	1,25	$20,64 \cdot 10^6$	113,44	9,924	0,5	0,39	>100
4240	1,25	$20,66 \cdot 10^6$	39,2	11	0,57	0,04	>100
Mittelwerte:			103,8	10,46	0,53	0,2	

Tab. 26 Bakterizidie von 2mcg/ml Trimethoprim gegenüber *Salmonella heidelberg* und *münchen*

Bei der Kombination Sulfamethoxazol/Trimethoprim sind nach 1 Stunde vom Stamm 3683 nur 36,77 % und vom Stamm 4240 nur 13,36 % Überlebende.

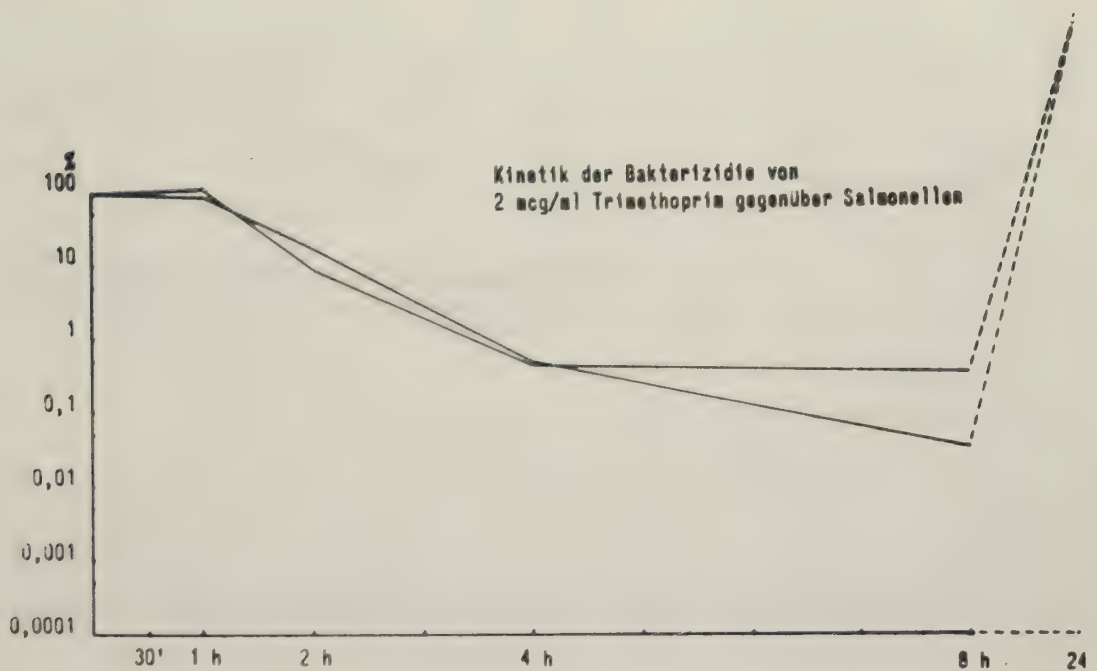


Abb. 27

10. Chloramphenicol

10.1. Die Wirkung von 10 mcg/ml Chloramphenicol gegenüber E. coli ist bakteriostatisch. (Tab. 27)

Nr.	IHK Ausgangs- mcg/ml keimzahl	30 min.	% der überlebenden				Keime 24 h
			1 h	2 h	4 h	8 h	
4102	2,04.10 ⁷	58,33	63,72	44,60	43,52	30,68	7,59

Tab. 27 Bakteriostatische Wirkung von 10 mcg/ml
Chloramphenicol gegenüber E. coli

Die bakteriostatische Wirkung von 10 mcg/ml Chloramphenicol gegenüber E. coli bedeutet jedoch nicht, daß gelegentlich eine gewisse passagäre Reduktion der Keimzahl (von 100% auf 7,59% binnen 24 h) auftreten kann. (Abb. 28)

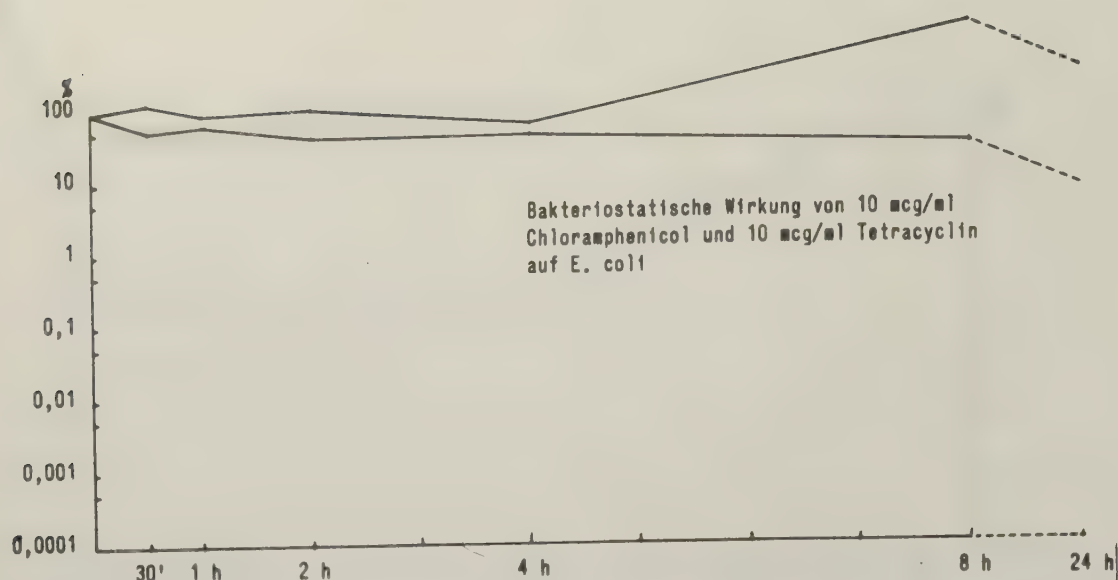


Abb. 28

11. Tetracyclin

Auch bei Tetracyclin (10 mcg/ml) gegenüber E. coli ist eine bakteriostatische Wirkung festzustellen. (Tab. 28)

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	% der Überlebenden				Keime	
			30 min.	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h
4147	nd	$2,13 \cdot 10^6$	124,8	94,83	100,9	63,38	1352,1	249,76

Tab. 28 Bakteriostatische Wirkung von 10 mcg/ml
Tetracyclin gegenüber E. coli

Für die graphische Darstellung siehe Abb. 28.

12. 10 mcg/ml Ampicillin im SR-Medium Difco

Die Bakterizidie ist mediumabhängig. Die Resultate der Bakterizidie-Bestimmung von 10 mcg/ml Ampicillin auf E. coli im SR-Medium sind in der Tab. 29 in den ersten zwei Zeilen dargestellt. Zum besseren Vergleich mit der Wirkung von Ampicillin (10 mcg/ml) gegenüber gleichen Stämmen im ABM 3 - Medium sind die Ergebnisse dieser Versuche in den letzten zwei Zeilen der Tab. 29 wiederholt.

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	% 30 min.	1 h	2 h	Überlebenden 4 h	8 h	Keime 24 h
1014	10	$5,32 \cdot 10^6$	17,51	8,75	2,03	0,24	0,002	0
1036	10	$9,99 \cdot 10^6$	18,61	2,13	0,035	0,012	0,003	0
1014	10	$3,61 \cdot 10^7$	2,21	0,016	0,0007	0,0001	0	0
1036	10	$1,86 \cdot 10^7$	0,27	0,0035	0	0	0	0

Tab. 29 Bakterizidie von 10 mcg/ml Ampicillin gegenüber E. coli im SR-Medium Difco (Zeile 1 & 2) und im ABM 3 (Zeile 3 & 4)

Die Abb. 29 zeigt die graphische Darstellung von Bakterizidie-Effekt von 10 mcg/ml Ampicillin auf E. coli im SR-Medium und ABM 3-Medium.

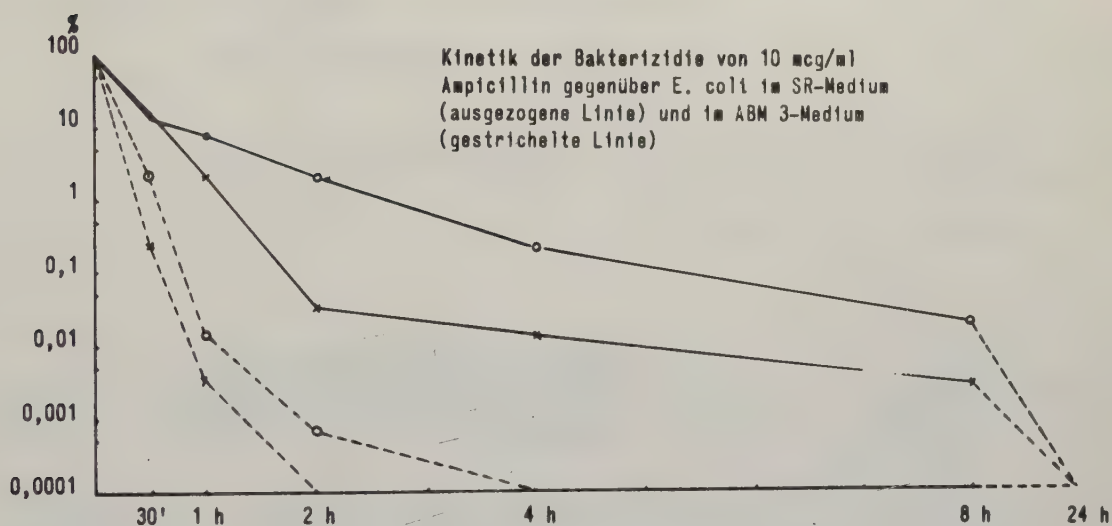


Abb. 29

Da die Bakterizidie mediumabhängig ist, können die Sulfamethoxazol/Trimethoprim Versuche nicht mit den Ampicillin Versuchen verglichen werden.

13. Kombinationseffekte

In den folgenden Versuchen sollen die Wirkungen von Antibiotika-kombinationen Ampicillin/Gentamycin und Cephalothin/Gentamycin und erforscht werden. Wir testeten den E. coli Stamm 4102 mit 10 mcg/ml Ampicillin/ 1 mcg/ml Gentamycin und 10 mcg/ml Cephalothin/ 1 mcg/ml Gentamycin. In der Tab. 30 sind in der 1. Zeile die Ampicillin/Gentamycin Ergebnisse und in der 2. Zeile die Cephalothin/Gentamycin Ergebnisse dargestellt.

Nr.	MHK mcg/ml	Ausgangs- keimzahl	% 30 min.	% 1 h	der 2 h	Überlebenden 4 h	8 h	Keime 24 h
4102	10	$4,88 \cdot 10^6$	20,0	0,03	0,0004	0,0	0	0
4102	10	$5,10 \cdot 10^6$	21,7	4,1	0,003	0,0004	0	0

Tab. 30 Bakterizidie von 10 mcg/ml Ampicillin/ 1 mcg/ml Gentamycin und 10 mcg/ml Cephalothin/ 1 mcg/ml Gentamycin gegenüber E. coli

Die Abb. 30 zeigt die graphische Darstellung der Kinetik der Bakterizidie von 10 mcg/ml Ampicillin/ 1 mcg/ml Gentamycin und 10 mcg/ml Cephalothin/ 1 mcg/ml Gentamycin gegenüber E. coli (4102).

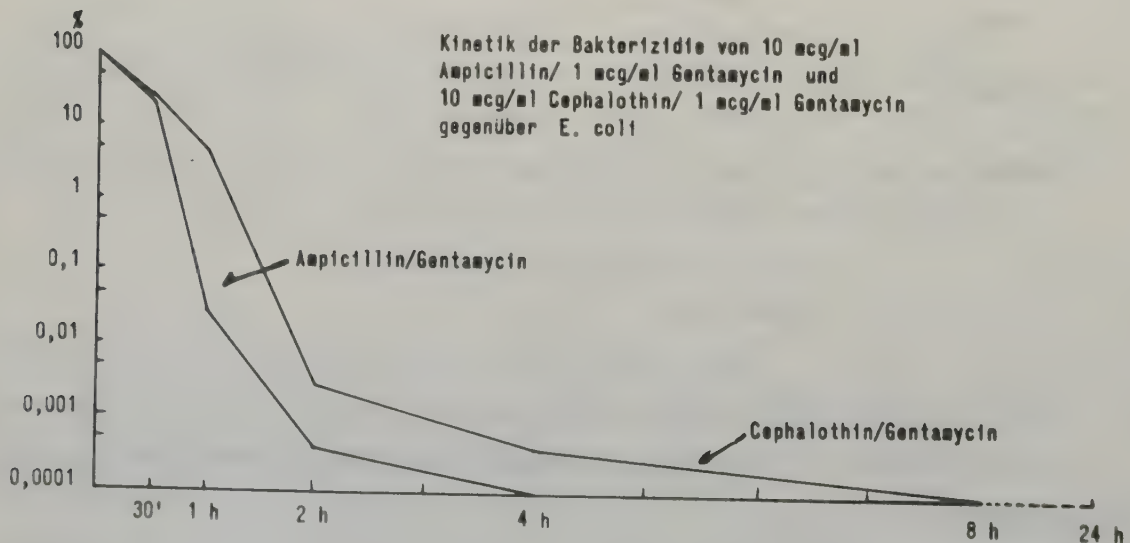


Abb. 30

C. Stämme - Mittelwertskurven

Es erscheint interessant die Ergebnisse der Bakterizidie bei den einzelnen Keimarten zusammenzufassen. Dabei werden die Mittelwertskurven der Bakterizidie verglichen.

Bei *E. coli* findet sich somit eine folgende Kinetik der Bakterizidie (Abb. 31)

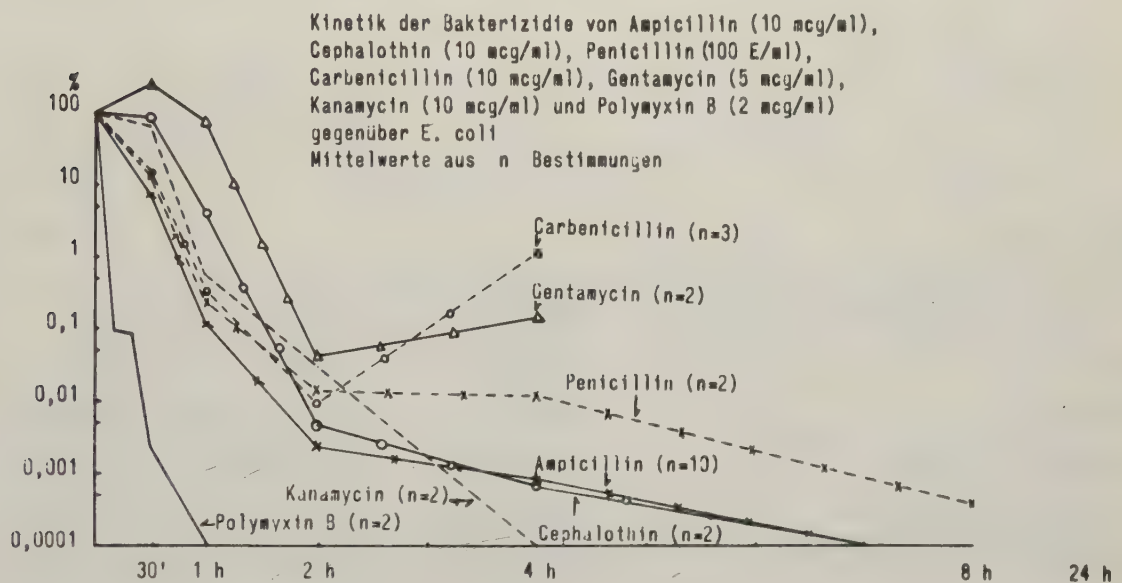


Abb. 31

Die Abb. 32 zeigt den Ablauf der Bakterizidie bei *Proteus mirabilis*.

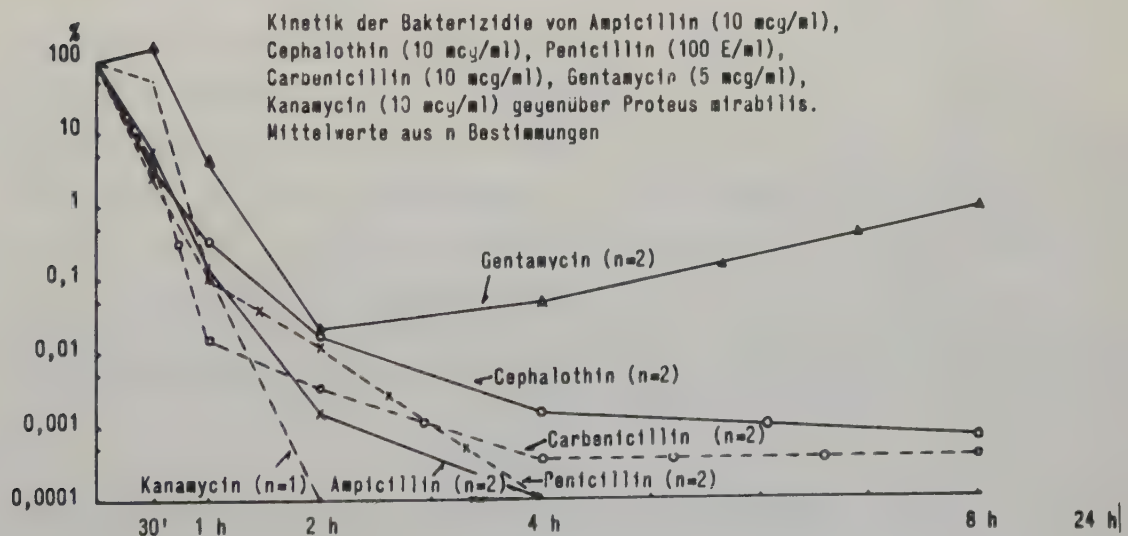


Abb. 32

Die Mittelwertskurven der Kinetik der Bakterizidie bei Klebsiellen sind in der Abb. 33 dargestellt.

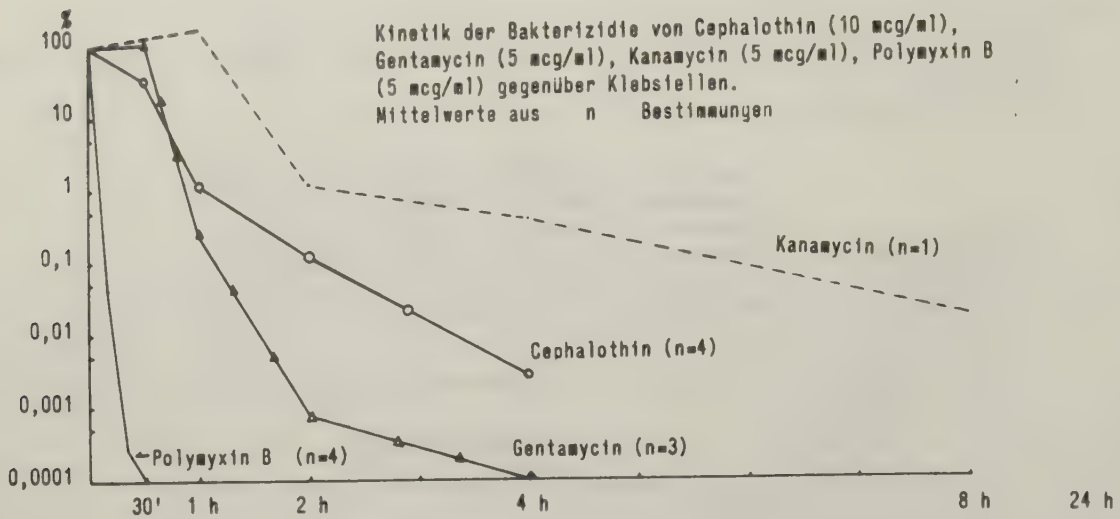


Abb. 33

Die Abb. 34 zeigt den Ablauf der Bakterizidie bei Salmonellen.

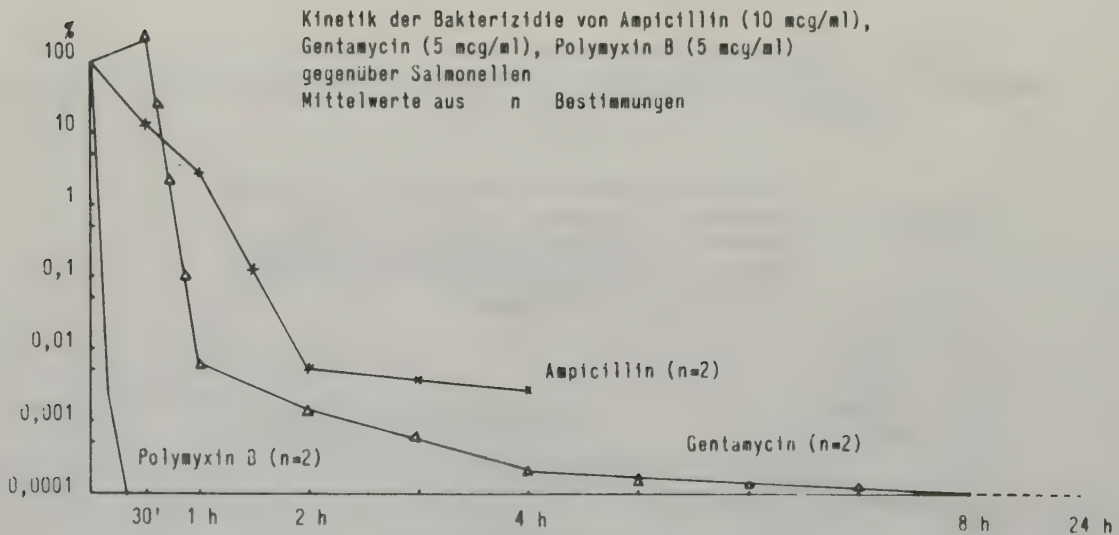


Abb. 34

Die Ergebnisse der Versuche mit der Kombination Sulfamethoxazol/Trimethoprim lassen sich nicht hier vergleichen, da hierbei das antagonistenfrie SR-Medium benutzt wurde.

Wenn man ein Messwert für die Bakterizidie angeben will, erscheint die Angabe der Zeit in der eine Keimreduktion von 99 % der Ausgangs-keimzahl erreicht wird sinnvoll ($T=1\%$).

Dieser Wert kann mit hinreichender Genauigkeit an der graphischen Darstellung der Kinetik der Bakterizidie abgelesen werden. Die Angaben für die geprüften Stämme lassen sich wie folgt zusammenfassen. Tab. 31

	E. coli	Salmonellen	Klebsiellen	Proteus mirabilis
10 mcg/ml Ampicillin:	23- <u>37</u> -55	36- <u>70</u> -105	37- <u>56</u> -76	<u>40</u>
10 mcg/ml Carbenicillin:	44- <u>50</u> -56			38- <u>39</u> -39
100 E/ml Penicillin:	48- <u>49</u> -50			30- <u>36</u> -42
10 mcg/ml Cephalothin:	72- <u>73</u> -74		37- <u>56</u> -76	20- <u>35</u> -51
10 mcg/ml Kanamycin:	47- <u>58</u> -70		14- <u>26</u> -38	<u>50</u>
5 mcg/ml Gentamycin:	94- <u>95</u> -96		24- <u>64</u> -45	48- <u>66</u> -84
2 mcg/ml Polymyxin B:	<u>6</u>			
5 mcg/ml Kanamycin:			<u>152</u>	
5 mcg/ml Polymyxin B:		3- <u>3</u> -4	3- <u>9</u> -7	
40 mcg/ml Sulfamethoxazol/ 2 mcg/ml Trimethoprim ⁺	36- <u>178</u> -376	107- <u>127</u> -248	<u>180</u>	16h bis keine
2 mcg/ml Trimethoprim: ⁺	90 bis keine	<u>210</u>		
10 mcg/ml Ampicillin: ⁺	72- <u>126</u> -160			

⁺Für diese Versuche verwendeten wir das antagonistenfrie SR-Medium Difco, in dem bakterizide Effekte langsamer als im ABM 3 ablaufen. Die Werte sind nicht direkt vergleichbar.

Tab. 31 Zeit einer 99 %igen Abtötung in Minuten ($T=1\%$)

D. Die Dosis-Wirkungsrelation ist ein wichtiger Parameter für Aussagen über die therapeutisch sinnvolle Dosierungen.

In diesem Abschnitt sollen die Dosis-Wirkungsrelation der Bakterizidie von Ampicillin, Penicillin G, Cephalothin, Gentamycin, Kanamycin und Polymyxin B dargelegt werden. Es wurde jedesmal der E. coli Stamm Nr. 4102 getestet. Als Medium diente das Anti Biotic Medium 3 (ABM 3).

Die Tab. 32 zeigt die Dosis-Wirkungsrelation der Bakterizidie von Ampicillin (Einwirkungszeit 1,5 h) und Cephalothin (Einwirkungszeit 1 h). Die Tab. 33 zeigt die Dosis-Wirkungsrelation der Bakterizidie von Penicillin bei einer Einwirkungszeit von 1 h.

Anti- biot.	Ausgangs- keimzahl	100	% 50	der 25	Überlebenden 12,5	Keime 6,25	3	1,5 mcg/ml
Ampicillin	$9,99 \cdot 10^5$	5,9	5,9	5,32	6,43	6,66	88,8	112,1
Cephalothin	$7,99 \cdot 10^4$	0	0,02	0,16	0,27	0,86	237,9	260,7

Tab. 32 Dosis-Wirkungsrelation der Bakterizidie von Ampicillin und Cephalothin gegenüber E. coli

Ausgangs- keimzahl	1000	% 500	der 250	Überlebenden 125	Keime 62,5	31,25	15,1	7,5 E/ml
$2,44 \cdot 10^6$	0,002	0,004	0,009	0,06	0,13	4,5	80,73	>100

Tab. 33 Dosis-Wirkungsrelation der Bakterizidie von Penicillin G gegenüber E. coli

Die Abb. 35 zeigt die graphische Darstellung von Dosis-Wirkungsrelation von Ampicillin, Cephalothin und Penicillin G. Es zeigte sich bei unseren Versuchen eindeutig, daß durch Erhöhung der Dosis von 6,25 auf 100 mcg/ml Ampicillin die bakterizide Wirkung sich nicht steigern läßt. Ähnlich, wenn auch nicht so deutlich ausgeprägt, verhält es sich bei Penicillin G und Cephalothin.

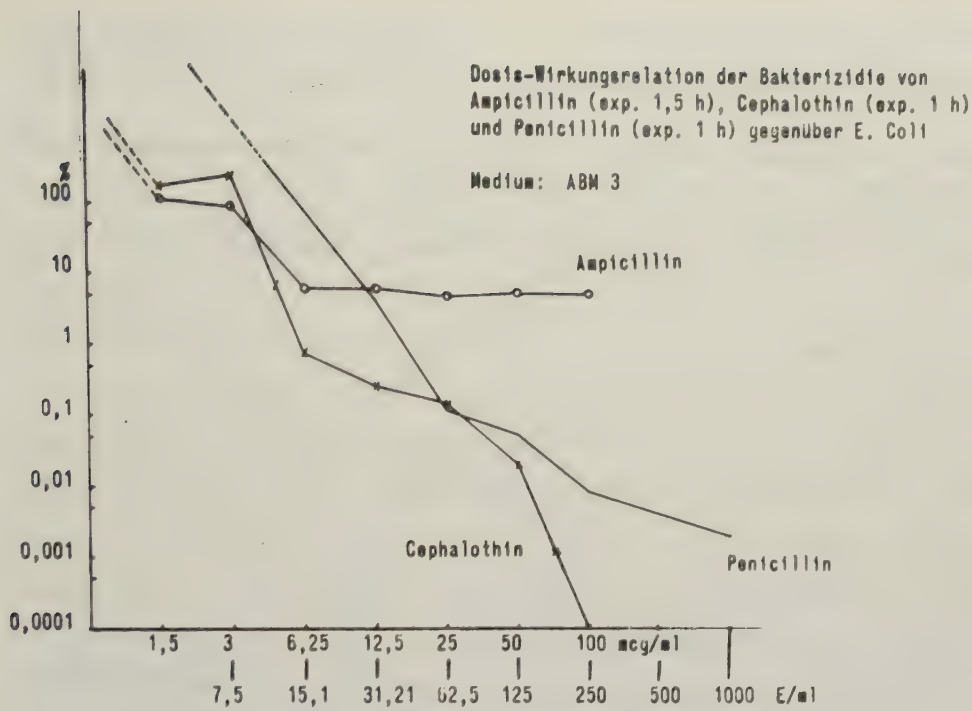


Abb. 35

Dagegen verhalten sich die Aminoglykosid-Antibiotika Gentamycin und Kanamycin sowie Polymyxin B anders. Hierbei zeigte sich eine eindeutige konzentrationsabhängige bakterizide Wirkung. Mit Erhöhung der Konzentration nimmt auch die bakterizide Wirkung zu.

Die Tab. 34 stellt die Ergebnisse der Versuche zur Ermittlung der Dosis-Wirkungsrelation mit Gentamycin (Einwirkungszeit 1 h) und Kanamycin (Einwirkungszeit 1 h). Die Tab. 35 zeigt die Ergebnisse der Versuche mit Polymyxin B (Einwirkungszeit 20 min.).

Anti-	Ausgangs-		%	der	überlebenden	Keime			
biot.	keimzahl	100	50	25	12,5	6,25	3	1,5	0,7
									mcg/ml
Genta.	$6,88 \cdot 10^6$	0,0006	0,0035	0,009	8,06	40,55	109,3	326,4	nd
Kana.	$2,86 \cdot 10^7$	nd	0	0,0007	0,0037	2,17	23,11	24,8	>10

Tab. 34 Dosis-Wirkungsrelation der Bakterizidie von Gentamycin und Kanamycin

Ausgangs-		%	der	überlebenden	Keime				
keimzahl	2,5	1,25	0,625	0,312	0,15	0,075	0,038	0,019	0,009
									mcg/ml
$1,86 \cdot 10^7$	0	2,56	3,1	9,7	15,1	17,9	29,8	116,6	137

Tab. 35 Dosis-Wirkungsrelation der Bakterizidie von Polymyxin B

Die Abb. 36 zeigt die graphische Darstellung der Dosis-Wirkungs-
relation der Bakterizidie von Gentamycin, Kanamycin und Polymyxin B.

Dosis-Wirkungsrelation der Bakterizidie von Gentamycin (exp. 1 h), Kanamycin (exp. 1 h) und Polymyxin B (exp. 20 min.) gegenüber E. coli 4102 Medium: ABM 3

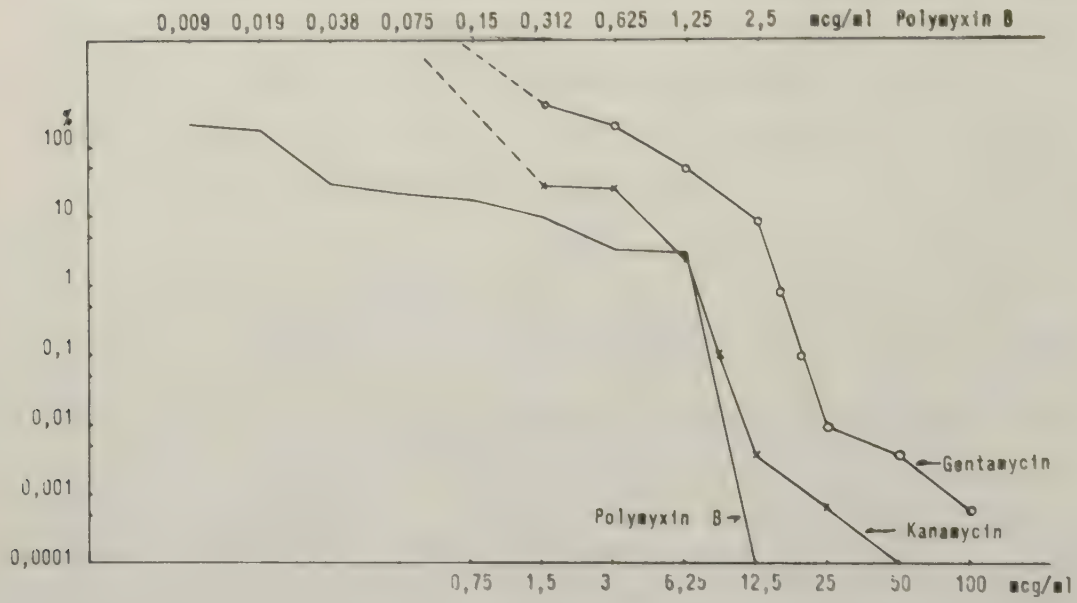


Abb. 36

IV. Diskussion

Bei Abtötungsversuchen mit Enterobakterien (*E. coli*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Proteus*) stellten wir mit Ampicillin, Cephalothin, Gentamycin, Kanamycin und Polymyxin B eine schnelle und weitgehende Bakterizidie fest. Es gibt bei gramnegativen Bakterien offenbar keine klinisch bedeutsame Latenzzeit vor dem Einsetzen der Bakterizidie. Auch Persistenzphänomene spielen bei Enterobakterien keine große Rolle. Bei unseren Untersuchungen konnte die Bakterizidie der Kombination von Trimethoprim und Sulfamethoxazol eindeutig nachgewiesen werden. Sie ist jedoch nicht in allen Fällen vorhanden und schwankt in ihrem Ausmaß mehr als bei Antibiotika. Die Bakterizidie der Trimethoprim-Sulfamethoxazol-Kombination ist auf einen Kombinationseffekt und nicht auf die isolierte Trimethoprimwirkung zurückzuführen.

Bei der Dosis-Wirkungsrelation der Bakterizidie besteht ein unterschiedliches Verhalten einmal bei den Penicillinen zum anderen bei Aminoglykosid-Antibiotika und Polymyxinen. Die Antibiotika der Penicillingruppe zeigen eine im Prinzip gleichartige Kinetik der Bakterizidie, mit einer Konzentrationserhöhung läßt sich hier nur eine geringe Wirkungsverstärkung erreichen. Eine derartige Alles-oder-Nichts Wirkung der Penicillin-Antibiotika ist bereits aus den früheren Untersuchungen von Rolinson (4) veröffentlicht worden. Dieses wichtige Charakteristikum der Penicillinwirkung hat aber wenig Beachtung gefunden. Bei Antibiotika der Aminoglykosidreihe sowie bei Polymyxin B erhöht sich der bakterizide Effekt proportional der Dosierung; höhere Antibiotikakonzentrationen führen zu einer verstärkten Bakterizidie.

Als klinische Folgerung unserer Untersuchung über die Kinetik der Bakterizidie können wir feststellen, daß bei Enterobakterien mit den üblichen bakteriziden Antibiotika weitgehende bakterizide Effekte in Zeiträumen erzielt werden, in denen bei üblicher Dosierung das Antibiotikum im Körper vorhanden ist. Unsere Dosis-Wirkungsrelationsversuche zeigen, daß bei Penicillinen eine Höherdosierung nicht immer sinnvoll ist. Die häufig vertretene Auffassung durch eine höhere Penicillindosierung eine

stärkere Bakterizidie zu erzielen ist offenbar nicht haltbar, man kann durch höhere Dosierung jedoch die Pharmakokinetik und die Gewebsdifffusion verbessern. Bei Aminoglykosid-Antibiotika läßt sich zwar die bakterizide Wirkung durch höhere Dosierung steigern. Da hierbei jedoch in der Regel die Standarddosierung bereits die Höchstdosierung darstellt läßt sich dieses therapeutische Prinzip praktisch wohl kaum anwenden.

Unsere Untersuchungen sollten nicht dahingehend interpretiert werden, daß ein schneller Ablauf der Bakterizidie eine zwingende Voraussetzung für eine bessere Therapie ist. So findet sich bei Polymyxinen der schnellste Ablauf der Bakterizidie, der der Wirkung eines Desinfektionsmittels gleichkommt. Die klinischen Resultate einer Therapie mit Polymyxinen sind aber häufig unbefriedigend. Dementsprechend wollen wir in unserer Arbeit nicht dahingehend mißverstanden werden, daß Ampicillin, das *Escherichia coli* in einer Zeit von 37 min. zu 99 % abtötet, ein besseres Antibiotikum darstellt als Cephalothin, das den gleichen Effekt (bei gleicher Konzentration) erst nach 73 min. erreicht. Beide Werte liegen in einer Dimension, die bei üblicher Applikation des Antibiotikums im Körper erreicht wird. Von Bedeutung erscheinen uns in erster Linie krasse Diskrepanzen zwischen der Kinetik der Bakterizidie und der Halbwertszeit des Antibiotikums. Ein derartiges Mißverhältnis zwischen der Kinetik der Bakterizidie und der Pharmakokinetik des Antibiotikums haben Stille und Rawer (7) in früheren Untersuchungen bei Enterokokken feststellen können. Hierbei wurde bei einer Halbwertszeit von ca 1 Stunde bei Ampicillin eine 99 %ige Abtötung erst nach 20 Stunden erreicht.

Durch Berücksichtigung der Kinetik der Bakterizidie lassen sich wesentlich physiologischere Aussagen für eine bakterizide Therapie machen als durch die bislang übliche Angabe einer minimalen Hemmkonzentration und einer minimalen bakteriziden Konzentration. Unsere Untersuchungen sind somit als Voruntersuchung für weitergehende tierexperimentelle oder klinische Untersuchungen über die Bedeutung der bakteriziden Therapie anzusehen.

V. Zusammenfassung

Die Kinetik der Bakterizidie bei Enterobakterien wurde mittels der Membran-Filter Methode geprüft.

Wenn man als Maß der Bakterizidie die Zeit der Keimreduktion um 99 % der Ausgangskeimzahl verwendet ergeben sich folgende Werte:

	E. coli	Salmonellen	Klebsiellen	Prot. mir.
10 mcg/ml Ampicillin:	23- <u>37</u> -55	36- <u>70</u> -105	37- <u>56</u> -76	<u>40</u>
10 mcg/ml Carbenicillin:	44- <u>50</u> -56			38-39-39
100 E/ml Penicillin:	48- <u>49</u> -50			30- <u>36</u> -42
10 mcg/ml Cephalothin:	72- <u>73</u> -74		37- <u>56</u> -76	20- <u>35</u> -51
10 mcg/ml Kanamycin:	47- <u>58</u> -70		14- <u>26</u> -38	<u>50</u>
5 mcg/ml Gentamycin:	94- <u>95</u> -96		24- <u>64</u> -45	48- <u>66</u> -84
2 mcg/ml Polymyxin B:	<u>6</u>			
5 mcg/ml Polymyxin B:		3- <u>3</u> -4	3- <u>9</u> -7	
5 mcg/ml Kanamycin:			<u>152</u>	
40 mcg/ml Sulfamethoxazol/ 2 mcg/ml Trimethoprim	36- <u>178</u> -376	107-127-248	180	16h bis keine
2 mcg/ml Trimethoprim:	90 bis keine	<u>210</u>		

Tab. 36 Zeit einer 99 %igen Abtötung in Minuten (T=1%)

Die Bakterizidie aller geprüften Antibiotika gegenüber Enterobakterien verläuft schnell und führt zu einer ausgedehnten Abtötung mit geringer Persistenzrate.

Während der bakterizide Effekt durch Dosiserhöhung bei den Antibiotika aus der Penicillinreihe kaum verbessert werden kann, zeigen die Aminoglykosid-Antibiotika und Polymyxin B eine bessere bakterizide Wirkung bei höherer Konzentration.

Die für eine Therapie bei Infektionen mit E. coli, Proteus mirabilis und vulgaris, Klebsiellen und Salmonellen infrage kommenden Antibiotika führen in recht kurzer Zeit zu weitgehender Abtötung der Erreger. Eine ungenügende Bakterizidie ist offenbar bei gram-negativen Erregern kein limitierender Faktor.

Literaturverzeichnis

- 1.) Klein, P.: Bakteriologische Grundlagen der Chemo-
therapeutischen Laboratoriumspraxis, Berlin,
Göttingen, Heidelberg, 1957
- 2.) Oberzill, W.: Mikrobiologische Analytik, Nürnberg, 1967
- 3.) Rische, Sedláček : Enterobacteriaceae-Infektionen,
Leipzig, 1968
- 4.) Rolinson: in de Teuck, A., Cameron, M., P. : Resistance of
bacteria to the Penicillins, London, Curchill, 1962
- 5.) Seifert, E.,: Untersuchungen über den Ablauf der Bakterizidie
von Penicillin G, Oxacillin, Cephaloridin,
Lincomycin, Vancomycin, Streptomycin, Kanamycin
und Gentamycin gegenüber *Staphylococcus Aureus*,
Dissertation, Frankfurt/main, 1970
- 6.) Sous, H.,: Die Wirkung der Kombination von Penicillin mit
Streptomycin auf Colibakterien in vitro
Zchr. f. Hyg. Bd. 137 (1962) 28
- 7.) Stille, W., Rawer, F.,: Bakterizidie-Untersuchungen zur Therapie
der Enterokokken-Endokarditis
Deutsche Medizinische Wochenschrift, 95. Jahrgang,
November 1970
- 8.) Vömel, W.: Experimentelle Grundlagen der Entwicklung
antibakterieller Chemotherapeutika
Therapiewoche 20 (1965) 1081
- 9.) Walter/Heilmeyer: Antibiotika-Fibel, III. Auflage,
Stuttgart, 1969

Lebenslauf

Ich wurde am 16.7.45 in Omdurman (Sudan) geboren.

Nach dem Besuch der Comboni Boys' School in Port Sudan und Comboni College in Khartoum legte ich die Prüfungen für Sudan School Certificate bei der "Sudan Examination Council in collaboration with Cambridge University" und für General Certificate of Education of Oxford University ab.

1962 kam ich nach Deutschland. Nach einjährigem Besuch von Studienkolleg für ausländische Studienbewerber fing ich mit meinem Medizinstudium im Winter-Semester 1963 an. Am 12. Februar 1970 legte ich an der Johann Wolfgang Goethe Universität (Frankfurt/Main) die ärztliche Prüfung ab.

Juli, 1971

P. M. Shah

Lebenslauf

Ich wurde am 16.7.45 in Omdurman (Sudan) geboren.

Nach dem Besuch der Comboni Boys' School in Port Sudan und Comboni College in Khartoum legte ich die Prüfungen für Sudan School Certificate bei der "Sudan Examination Council in collaboration with Cambridge University" und für General Certificate of Education of Oxford University ab.

1962 kam ich nach Deutschland. Nach einjährigem Besuch von Studienkolleg für ausländische Studienbewerber fing ich mit meinem Medizinstudium im Winter-Semester 1963 an. Am 12. Februar 1970 legte ich an der Johann Wolfgang Goethe Universität (Frankfurt/Main) die ärztliche Prüfung ab.

Juli, 1971

B. M. Shah

Verzeichnis meiner akademischen Lehrer:

Prof. Dr. med. Brehm
Prof. Dr. med. Contzen
Prof. Dr. med. Frick
Prof. Dr. med. Frey
Prof. Dr. med. Gerchow
Prof. Dr. med. Halbsgut
Prof. Dr. med. Hartung
Prof. Dr. med. Holtz
Prof. Dr. med. Hövels
Prof. Dr. med. Knothe
Prof. Dr. med. Kulenkampf
Prof. Dr. med. Lapp
Prof. Dr. med. Lindauer
Prof. Dr. med. Martins
Prof. Dr. med. Rajewsky
Prof. Dr. med. Rotter
Prof. Dr. med. Róka
Prof. Dr. med. Schöffling
Prof. Dr. med. Siede
Prof. Dr. med. Starck
Prof. Dr. med. Wezler

Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der Medizinischen Fakultät Frankfurt/Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel "Untersuchungen zur Kinetik der Bakterizidie bei Enterobakterien" im Zentrum der Inneren Medizin der Universität Frankfurt/Main unter Leitung von Herrn Priv. Doz. Dr. med. W. Stille ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät bzw. Fachbereich Humanmedizin ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt/Main, den 2.7.71

B. M. Shah

